Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas

Escuela Profesional de Ingeniería Biotecnológica

Estado actual de las investigaciones sobre la embriogénesis somática como proceso biotecnológico

Tesis presentada por:

Fernandez Romero, Mijail

ORCID: 0000-0002-7834-0393

para optar el título profesional de Ingeniero Biotecnólogo

Asesora:

Dra. Bardales Alvarez, Roxana Margarita

ORCID: 0000-0002-5137-4067

Arequipa - Perú

2026

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

INGENIERIA BIOTECNOLOGICA

TITULACIÓN CON TESIS

DICTAMEN DE ASESORÍA

Arequipa, 17 de Julio del 2023

Dictamen: 008484-B-EPIB-2023

Visto el borrador de tesis del expediente 008484, presentado por:

2004201061 - FERNANDEZ ROMERO MIJAIL

Titulado:

ESTADO ACTUAL DE LAS INVESTIGACIONES SOBRE LA EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA COMO PROCESO BIOTECNOLÓGICO

El dictamen es:

APROBADO

29280938 - BARDALES ALVAREZ ROXANA MARGARITA
DICTAMINADOR
ORCID:

ESTADO ACTUAL DE LAS INVESTIGACIONES SOBRE LA EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA COMO PROCESO BIOTECNOLÓGICO

INFORME DE ORIGINALIDAD

16%	14%	10%	5%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	vdoc.pub Fuente de Internet	1%
2	"The Catharanthus Genome", Springer Science and Business Media LLC, 2022 Publicación	1%
3	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	1%
4	Submitted to Universidad Tecnologica del Peru Trabajo del estudiante	1%
5	www.researchgate.net Fuente de Internet	<1%
6	repositorio.ucsm.edu.pe Fuente de Internet	<1%
7	cicy.repositorioinstitucional.mx Fuente de Internet	<1%
8	www.coursehero.com Fuente de Internet	<1%
9	hdl.handle.net Fuente de Internet	<1%
10	mdpi-res.com Fuente de Internet	<1%
11	Submitted to Khalifa University of Science Technology and Research Trabajo del estudiante	<1%
12	www.mdpi.com Fuente de Internet	<1%
13	dspace.ups.edu.ec Fuente de Internet	<1%
14	Ewa Grzebelus, Aneta Malec-Pala, Katarzyna Stelmach-Wityk, Dariusz Kadluczka, Emilia Morańska, Tomasz Oleszkiewicz. "Comparison of the regeneration ability in	<1%

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a todas las personas que han sido un faro de luz en mi camino y que han moldeado mi vida y mis sueños. A Dios, mi guía constante, por darme la fuerza y claridad en cada paso; a mis padres, por su infinito amor y apoyo incondicional, quienes me enseñaron con su ejemplo el valor de la dedicación y perseverancia. A mi madre, por su cariño y motivación en los momentos difíciles, y a mi padre, por su inquebrantable apoyo que me enseñó a enfrentar adversidades.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi sincera gratitud a Dios y al Universo por su apoyo constante a lo largo de este viaje. Su guía me ha proporcionado la fortaleza, la salud y la claridad necesarias para llegar hasta aquí, y por ello siempre estaré agradecido.

A mi mamá, papá y hermanos, gracias por su amor y paciencia incondicional. Su presencia ha sido fundamental en cada paso de este proceso. También deseo reconocer a mis amigos y a todos aquellos que han sido parte de este camino; su apoyo y compañía han sido invaluable.

A mis padres, agradezco profundamente su papel esencial en mi vida. Su ejemplo, fe y valores me han brindado una base sólida. Valoro todos los sacrificios que han hecho para proporcionarme las herramientas necesarias para crecer y avanzar. Me han enseñado la importancia de esforzarme y luchar por mis sueños. Todo lo que soy y he logrado es gracias a ustedes.

RESUMEN

Este estudio desarrolla una Revisión Sistemática de Literatura (RSL) basada en el modelo PCC, con el fin de analizar el estado actual de las investigaciones sobre embriogénesis somática entre 2020 y 2024. Se realizó una búsqueda exhaustiva en Scopus, Springer, ScienceDirect, PubMed y EBSCO, obteniéndose inicialmente 493 artículos; tras aplicar criterios rigurosos de elegibilidad e inclusión, se seleccionaron 39 estudios pertinentes. Los resultados evidencian que las investigaciones se enfocan principalmente en especies alimenticias, que constituyen el 41.0% del total. El propósito biotecnológico más frecuente es la optimización de protocolos (25.6%), orientado a mejorar la eficiencia experimental. La técnica más empleada es la embriogénesis somática indirecta, utilizada en el 51.3% de los estudios por su estabilidad. Las diferencias más destacadas frente a los métodos convencionales corresponden a los aspectos técnico-metodológicos (41.7%), reflejando un mayor control y uniformidad en el proceso. En cuanto a los avances, predomina nuevamente la optimización de protocolos (33.9%), mientras que el principal desafío se vincula a aspectos hormonales y fisiológicos (26.9%). La principal limitación es la baja eficiencia del proceso (21.5%) y la aplicación más representativa es la propagación masiva (26.1%), lo que consolida a la embriogénesis somática como una herramienta clave para la multiplicación clonal a gran escala. En conjunto, los hallazgos demuestran que la embriogénesis somática constituye técnica eficiente para la propagación clonal y la optimización de protocolos en especies de interés estratégico, reafirmando su importancia para responder a los actuales desafíos agrícolas y ambientales.

Palabras clave: Embriogénesis somática, micropropagación in vitro, biotecnología vegetal.

ABSTRACT

This study presents a systematic literature review (SLR) guided by the Population, Concept, and Context (PCC) framework to examine the state of research on somatic embryogenesis published between 2020 and 2024. A comprehensive search of Scopus, Springer, ScienceDirect, PubMed, and EBSCO initially yielded 493 articles; following the application of eligibility and inclusion criteria, 39 relevant studies were selected. The findings indicate that research primarily focused on food crop species, which accounted for 41.0% of the studies. Protocol optimization was the most frequent biotechnological objective (25.6%), aimed at improving experimental efficiency. Indirect somatic embryogenesis was the most widely used technique (51.3%), owing to its stability. The most prominent differences compared with conventional methods concerned technical and methodological aspects (41.7%), reflecting greater process control and uniformity. Protocol optimization also represented the most frequently reported advance (33.9%), whereas hormonal and physiological factors constituted the main challenge (26.9%). Low process efficiency was the principal limitation (21.5%), and mass propagation was the most common application (26.1%), highlighting the role of somatic embryogenesis in large-scale clonal multiplication. Overall, the findings underscore the potential of somatic embryogenesis for clonal propagation and protocol optimization in strategically important species, while identifying persistent constraints on its efficiency and broader application in addressing agricultural and environmental challenges.

Keywords: Somatic embryogenesis, in vitro micropropagation, plant biotechnology.

ÍNDICE

DEDICATORIA
AGRADECIMIENTOS
RESUMEN
ABSTRACT
1. INTRODUCCIÓN 1
2. METODOLOGÍA 3
2.1. Estrategia de búsqueda 3
2.2. Criterios de inclusión y exclusión 5
2.3. Proceso de selección de estudios 6
3. RESULTADOS 10
3.1. Resultados bibliométricos 10
3.2. Características de los estudios 23
3.3. Principales hallazgos obtenidos 61
3.4. Aportes de la investigación 66
1. CONCLUSIONES 68
2. RECOMENDACIONES 70
3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 71

ÍNDICE TABLAS

Tabla 1 Componentes PCC 3
Tabla 2 Datos bibliométricos de los estudios 11
Tabla 3 Artículos según editoriales 18
Tabla 4 Plantas estudiadas según su uso o interés económico 24
Tabla 5 Técnicas de Embriogénesis Somática 29
Tabla 6 Protocolos de los estudios 33
Tabla 7 Métodos convencionales de propagación 38
Tabla 8 Métodos convencionales de propagación 40
Tabla 9 Diferencias reportadas entre métodos convencionales y ES 41
Tabla 10 Avances de la investigación en ES 45
Tabla 11 Desafíos de la investigación en ES 49
Tabla 12 Limitaciones de la investigación en ES 53
Tabla 13 Aplicaciones de la Embriogénesis Somática 57

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1 *Diagrama PRISMA del proceso de selección de estudios de la RSL* 8
Figura 2 *Artículos según país de origen* 20
Figura 3 *Artículos según año de publicación* 21
Figura 4 *Diagrama neuronal mediante VOSviewer* 23
Figura 5 *Especies de plantas estudiadas según su uso o interés* 26
Figura 6 *Propósito de la investigación* 27
Figura 7 *Técnicas de Embriogénesis Somática* 31
Figura 8 *Diferencia reportadas entre métodos convencionales y ES* 44
Figura 9 *Avances de la investigación en ES* 48
Figura 10 *Desafíos de la investigación en ES* 52
Figura 11 *Limitaciones de la investigación en ES* 56
Figura 12 *Aplicaciones de la Embriogénesis Somática* 59

LISTA DE ABREVIATURAS

1. Reguladores de crecimiento y hormonas vegetales

2,4-D	Ácido 2,4-diclorofenoxiacético
ABA	Ácido abscísico
AIA / IAA	Ácido indolacético
AIB / IBA	Ácido indolbutírico
ANA / NAA	Ácido naftalenacético
BA	Benciladenina
BAP	6-bencilaminopurina
BR	Brasinosteroides
CK	Citocininas
GA_3	Ácido giberélico
ETH	Etileno
ET	Etileno
JA	Ácido jasmónico
SA	Ácido salicílico
ZEA	Zeatina
TDZ	Tidiazurón
PGR	Regulador del crecimiento vegetal (Plant Growth Regulator)

2. Medios de cultivo

MS	Medio Murashige y Skoog
MS0	Medio MS sin reguladores
MSB	Medio MS básico
WPM	Woody Plant Medium (Medio para plantas leñosas)
DKW	Medio Driver & Kuniyuki
B5	Medio Gamborg B5
SH	Medio Schenk & Hildebrandt
NN	Medio Nitsch & Nitsch
QL	Quoirin & Lepoivre
Y3	Medio para palma oleaginosa
KM	Medio Kao & Michayluk

RIM	Regeneration Induction Medium (Medio de inducción de regeneración)
EIM	Embryo Induction Medium (Medio de inducción de embrión)
ECM	Embryogenic Callus Medium (Medio de callo embriogénico)
M1, M2, M3…	Secuencias de medios experimentales
GM	Germination Medium (Medio de germinación)
PM	Proliferation Medium (Medio de proliferación)
OM	Osmotic Medium (Medio osmótico)
MM	Maturation Medium (Medio de maduración)
EM	Embryo Maturation Medium (Medio de maduración de embriones)
RM	Rooting Medium (Medio de enraizamiento)

3. Técnicas de cultivo in vitro y embriogénesis

ES	Embriogénesis somática
SE	Somatic Embryo (Embrión somático)
TIS	Temporary Immersion System (Sistema de inmersión temporal)
RITA®	Recipient for Automated Temporary Immersion
SETIS™	Sistema automatizado de inmersión temporal
SS	Synthetic Seeds (Semillas sintéticas)
CE	Callo embriogénico
NEC	Callo no embriogénico
DIC	Diferenciación inducida celular
PFR	Proliferación rápida
HR	Reprogramación celular
VFC	Vitro leaf culture (cultivo de hojas in vitro)
EPS	Exudados polisacáridos extracelulares

4. Bioquímica, fisiología y enzimas

ROS	Especies reactivas de oxígeno
NO	Óxido nítrico
SOD	Superóxido dismutasa
CAT	Catalasa
APX	Ascorbato peroxidasa
GPX	Glutatión peroxidasa
POD	Peroxidasa

PAL	Fenilalanina amonio liasa
PPO	Polifenol oxidasa
MDA	Malondialdehído
H_2O_2	Peróxido de hidrógeno
GSH	Glutatión reducido
GSSG	Glutatión oxidado
TSP	Proteína soluble total

5. Biología molecular y genética

DNA	Ácido desoxirribonucleico
RNA	Ácido ribonucleico
mRNA	ARN mensajero
tRNA	ARN de transferencia
rRNA	ARN ribosomal
cDNA	ADN complementario
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
RT-PCR	PCR con transcripción reversa
RT-qPCR	PCR en tiempo real
RFLP	Polimorfismo de fragmentos de restricción
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
SSR	Micrsatélites
SNP	Polimorfismo de un solo nucleótido
NGS	Secuenciación de nueva generación
CRISPR/Cas9	Sistema de edición génica
sgRNA	ARN guía sintético
ORF	Marco de lectura abierto
LEC1/LEC2	Leafy Cotyledon 1 y 2 (genes embriogénicos)
BBM	BABY BOOM (gen embriogénico clave)
WUS	WUSCHEL (gen regulador de células madre)

6. Análisis, equipos e instrumentación

HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
GC-MS	Cromatografía de gases–espectrometría de masas

LC-MS	Cromatografía líquida–masas
UV-Vis	Espectroscopía ultravioleta–visible
FTIR	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier
TEM	Microscopía electrónica de transmisión
SEM	Microscopía electrónica de barrido
CLSM	Microscopía confocal de barrido láser
NMR	Resonancia magnética nuclear
SDS-PAGE	Electroforesis en gel de poliacrilamida con SDS
rpm	Revoluciones por minuto
LED	Diodo emisor de luz
PAR	Radiación fotosintéticamente activa
CBB	Coo massie Brilliant Blue (tinción de proteínas)

7. Estadística, modelos y bioinformática

PCA	Análisis de componentes principales
ANOVA	Análisis de varianza
MANOVA	Análisis multivariado de varianza
SPSS	Paquete estadístico para ciencias sociales
R^2	Coeficiente de determinación
CV	Coeficiente de variación
SD	Desviación estándar
RStudio	Entorno de programación estadística R
MEGA	Software de análisis evolutivo molecular

8. Metodología de investigación

RSL	Revisión Sistemática de Literatura
PRISMA	Ítems preferidos para revisiones sistemáticas
PCC	Población–Concepto–Contexto
CE	Criterios de exclusión
CI	Criterios de inclusión

1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad las actividades como la silvicultura e industria agrícola toman mayor importancia debido a su relación con el desarrollo económico de poblaciones que obtienen sus fuentes de ingresos de estas actividades y a la creciente demanda de alimentos a nivel mundial (1). En el escenario actual, la producción agrícola y hortícola se ven afectadas por el cambio climático global, la desertificación, la salinización, la crisis mundial del agua, que están causando una crisis alimentaria mundial y hambruna (2), lo que hace necesario buscar satisfacer el suministro de alimentos en los próximos años; debido a esto, la micropropagación surge como respuesta ante esta problemática, para la producción y conservación de plantas de importancia económica y ambiental utilizando métodos biotecnológicos que se han aplicado a una variedad de especies y se espera que continúen en el futuro (3).

La embriogénesis somática es una poderosa herramienta de la biotecnología vegetal que aprovecha la totipotencia de la célula vegetal para dar lugar a una planta completa permitiendo lograr la propagación clonal de genotipos seleccionados que tengan rasgos deseados como resistencia al estrés, idoneidad para la conservación, resistencia a patógenos y que posean propiedades agronómicas atractivas (4); sus aplicaciones en diferentes áreas como en el manejo de bosques y plantaciones forestales, acortamiento del ciclo de mejora, estudios de requerimiento nutricional, producción masiva de plantas, mejora de cultivos e investigaciones en la agricultura moderna, son cada vez más frecuentes debido a la alta eficiencia que brinda (5).

Sin embargo, a pesar de los avances en el desarrollo de protocolos de regeneración in vitro, persisten limitaciones significativas como la falta de reproducibilidad de los resultados, la variabilidad de respuesta entre genotipos similares y la pérdida progresiva del potencial embriogénico en los tejidos vegetales. Estas restricciones, sumadas a factores como la recalcitrancia del explanto o la formación de embriones somáticos anormales, obligan a que muchos procedimientos sigan basándose en enfoques de ensayo y error, reduciendo su eficiencia (6).

El análisis de la embriogénesis somática a partir de estudios previos resulta fundamental para sintetizar el conocimiento acumulado, identificar patrones, tendencias y vacíos en la literatura, y establecer una base sólida para futuras investigaciones y aplicaciones prácticas. Al tratarse de una revisión sistemática, el enfoque metodológico permite recopilar, evaluar críticamente y comparar evidencias provenientes de diversas fuentes científicas, lo que asegura la objetividad

y confiabilidad de las conclusiones; asimismo, orienta el desarrollo de protocolos más eficientes, adaptados a diferentes especies y contextos productivos, incrementando así el potencial de la embriogénesis somática como herramienta biotecnológica para la micropropagación in vitro.

Revisiones recientes han mostrado cómo los análisis sistemáticos integradores pueden orientar aplicaciones concretas en fito-mejoramiento. Por ejemplo, un estudio aborda los avances en micropropagación, embriogénesis somática, hibridación somática, transformación genética y criopreservación en Passiflora, resaltando el potencial de estas herramientas biotecnológicas para optimizar procesos de propagación y conservación (7). De forma similar, otra revisión sobre gramíneas de estación cálida destaca las contribuciones de la embriogénesis somática para fortalecer programas de mejoramiento convencionales mediante micropropagación, variación somaclonal, transformación genética y edición del genoma (8).

Se realizó una revisión bibliográfica en las bases de datos utilizadas en la investigación: Scopus, Springer, ScienceDirect, PubMed y EBSCO. De ellas se extrajeron artículos originales de investigación sobre embriogénesis somática, conforme con los criterios de elegibilidad establecidos.

El objetivo del trabajo documental fue analizar el estado actual de las investigaciones sobre la embriogénesis somática como proceso biotecnológico para la micropropagación clonal de plantas. Para ello, se evaluaron las principales técnicas y conceptos de la embriogénesis somática como herramienta biotecnológica para la micropropagación in vitro y sus diferencias con los métodos convencionales; se indagó sobre los avances recientes; se identificaron los principales desafíos y limitaciones de la embriogénesis somática aplicada a plantas de importancia socioeconómica y ambiental; y se estudiaron sus principales aplicaciones.

En este sentido, el aporte de la presente investigación radica en organizar y sistematizar la evidencia científica reciente sobre embriogénesis somática, integrando información relacionada con las especies estudiadas, los propósitos biotecnológicos, las técnicas y protocolos empleados, así como sus avances, desafíos, limitaciones y aplicaciones. Esta integración busca proporcionar una visión estructurada del campo y una base de referencia que permita identificar tendencias y áreas que requieren mayor atención, orientando futuras investigaciones hacia el desarrollo de protocolos más eficientes, reproducibles y adaptados a las características particulares de cada especie.

2. METODOLOGÍA

2.1. Estrategia de búsqueda

La presente investigación se llevó a cabo bajo la metodología de una Revisión Sistemática de Literatura (RSL) sin metaanálisis, puesto que este estudio pretende analizar la aplicación de la embriogénesis somática como técnica biotecnológica en la micropropagación clonal de plantas.

Para la definición del enfoque de la revisión se procedió a utilizar la metodología PCC, la cual permitió identificar con claridad los componentes fundamentales de la investigación y, en consecuencia, estructurar la estrategia de búsqueda.

El formato PCC surge con el propósito de plantear una interrogante estructurada a partir de tres elementos esenciales que facilitan la localización y selección de información científica confiable y relevante para el área de estudio. Dichos elementos corresponden a la población (P), el concepto (C) y el contexto (C), cuya adecuada formulación posibilita dirigir la búsqueda de literatura hacia un marco preciso de análisis.

Los componentes identificados en la presente investigación fueron los siguientes: la Población (P) se definió como las plantas propagadas in vitro mediante embriogénesis somática, el Concepto (C) se estableció como la embriogénesis somática entendida como proceso biotecnológico para la micropropagación clonal que aprovecha la totipotencia de la célula vegetal, y el Contexto (C) se delimitó a la investigación científica actual orientada a las técnicas, avances, desafíos y aplicaciones de la embriogénesis somática.

Tabla 1

Componentes PCC

		COMPONENTES	PALABRAS CLAVE
POBLACIÓN	**P**	plantas propagadas in vitro	"in vitro culture" "in vitro plant tissue culture" "In Vitro Propagation"
CONCEPTO	**C**	embriogénesis somática	"Somatic Embryogenesis" "Somatic Embryo*"
CONTEXTO	**C**	investigación científica actual, avances, desafíos, aplicaciones	"Plant Somatic Embryogenesis Techniques" advances, applications "Innovation" "limitation"

Nota. Elaboración propia

Luego de identificar los componentes determinados, se formuló la siguiente pregunta general de la revisión: ¿Cuál es el estado actual de las investigaciones sobre la embriogénesis somática como proceso biotecnológico para la micropropagación clonal de plantas? Esta pregunta se complementa, en coherencia con las siguientes preguntas específicas:

RQ1. ¿Qué plantas se investigan y con qué propósito biotecnológico se aplica la micropropagación in vitro?

RQ2. ¿Qué técnicas y protocolos de embriogénesis somática se reportan, y en qué aspectos difieren respecto a los métodos convencionales de micropropagación in vitro?

RQ3. ¿Cuáles son los principales avances, desafíos, limitaciones y aplicaciones actuales de la embriogénesis somática como herramienta biotecnológica para la micropropagación clonal de plantas in vitro?

Después de formular las preguntas de investigación. Se realizó la búsqueda bibliográfica la cual se desarrolló en bases de datos especializadas de alcance internacional como Scopus, Springer, Science Direct, PubMed y EBSCO.

Se emplearon los siguientes términos clave en inglés con el fin de garantizar la exhaustividad, precisión y relevancia de los estudios incluidos en el análisis.

P	In vitro culture OR In vitro plant tissue culture OR In vitro propagation
C	Somatic Embryogenesis OR Somatic Embryo*
C	Plant Somatic Embryogenesis Techniques OR Advances OR Applications OR Innovation OR Limitation)

Al aplicar la ecuación de búsqueda se establecieron criterios de filtrado que incluyeron un rango temporal comprendido entre los años 2020 al 2024, así como la restricción del tipo de documento exclusivamente a artículos científicos. Asimismo, se utilizaron operadores booleanos (AND/OR), truncamientos (*). De este modo se obtuvo un total de 493 estudios derivados de la siguiente búsqueda:

TITLE-ABS-KEY ("in vitro culture" OR "in vitro plant tissue culture" OR "in vitro propagation") AND ("Somatic Embryogenesis" OR "Somatic Embryo*") AND ("Plant Somatic Embryogenesis Techniques" OR advances OR applications OR innovation OR

limitation) AND PUBYEAR > 2019 AND PUBYEAR < 2025 AND (LIMIT-TO (DOCTYPE, "ar"))

Base de datos	Adaptación de la estrategia	Filtros aplicados	Registros
ScopusE01 (9)	TITLE-ABS-KEY con los tres bloques PCC; operadores AND/OR y truncamiento *	2020–2024; artículo científico	29
SpringerE02 (10)	Mismos términos PCC adaptados al buscador de la plataforma	2020–2024; artículo científico	244
ScienceDirectE03 (11)	Mismos términos PCC; sin “Somatic Embryo*” por restricción del buscador	2020–2024; artículo científico	122
PubMedE04 (12)	Mismos términos PCC adaptados a los campos de búsqueda disponibles	2020–2024; artículo científico	25
EBSCOE05 (13)	Mismos términos PCC adaptados a los campos de búsqueda disponibles	2020–2024; artículo científico	73

La ecuación anterior corresponde a la sintaxis empleada para Scopus. En Springer, ScienceDirect, PubMed y EBSCO se mantuvieron los mismos tres bloques conceptuales del modelo PCC, adaptando los campos y operadores admitidos por cada plataforma; en ScienceDirect se retiró el truncamiento “Somatic Embryo*” debido a que su buscador no lo admite. Los resultados recuperados por base fueron: Springer (n=244), ScienceDirect (n=122), PubMed (n=25), EBSCO (n=73) y Scopus (n=29), que suman 493 registros.

2.2. Criterios de inclusión y exclusión

Después de obtener los artículos que posteriormente serían analizados, se procedió a establecer los criterios de elegibilidad con el propósito de garantizar un análisis riguroso y sistemático de los estudios. Estos criterios permitieron delimitar la selección de literatura relevante y enfocada en los objetivos de la investigación.

Siendo los criterios de inclusión (CI):

CI1: Artículos que estudian la propagación in vitro de plantas.

CI2: Artículos que estudian la embriogénesis somática como método de micropropagación

clonal.

CI3: Artículos que discutan los avances, desafíos y aplicaciones (protocolo) del método de embriogénesis somática

Siendo los criterios de exclusión (CE):

CE1: Artículos que no estudien la propagación in vitro de plantas.
CE2: Artículos que estudien otros métodos de micropropagación distintos a la embriogénesis somática.

CE3: Artículos que no analicen avances, desafíos ni aplicaciones de la embriogénesis somática, limitándose solo a aspectos descriptivos o teóricos.

De esta manera, los criterios de inclusión se orientaron a recopilar investigaciones que aportaran información relevante sobre la embriogénesis somática aplicada a la micropropagación clonal de plantas, con énfasis en la identificación de avances científicos, la resolución de desafíos técnicos y la descripción de protocolos aplicados en la propagación in vitro.

2.3. Proceso de selección de estudios

Al aplicar la ecuación de búsqueda en las distintas bases de datos y establecer un filtro temporal que abarcó el periodo comprendido entre 2020 y 2024, se incorporó además un criterio de inclusión que consideró únicamente artículos originales de investigación, excluyendo revisiones sistemáticas, actas de congresos y libros. Como resultado de este proceso, se identificaron 493 artículos relacionados con la embriogénesis somática aplicada a la micropropagación clonal de plantas.

Posteriormente, se realizó una primera fase de recuperación de textos completos. De los 493 registros identificados, 357 no pudieron recuperarse para evaluación a texto completo debido a restricciones de acceso o requerimiento de pago, por lo que 136 publicaciones estuvieron disponibles para continuar con el proceso. Estos 357 registros se consideraron informes no recuperados y no exclusiones por pertinencia temática, dado que no fue posible evaluar su contenido completo.

No obstante, para afinar la selección y garantizar que los estudios estuvieran alineados desde el inicio con los objetivos de la investigación, se aplicaron los criterios de exclusión previamente definidos. El criterio CE1 descartó 33 artículos que no abordaban la propagación in vitro de plantas. El criterio CE2 eliminó 43 artículos que trataban otros

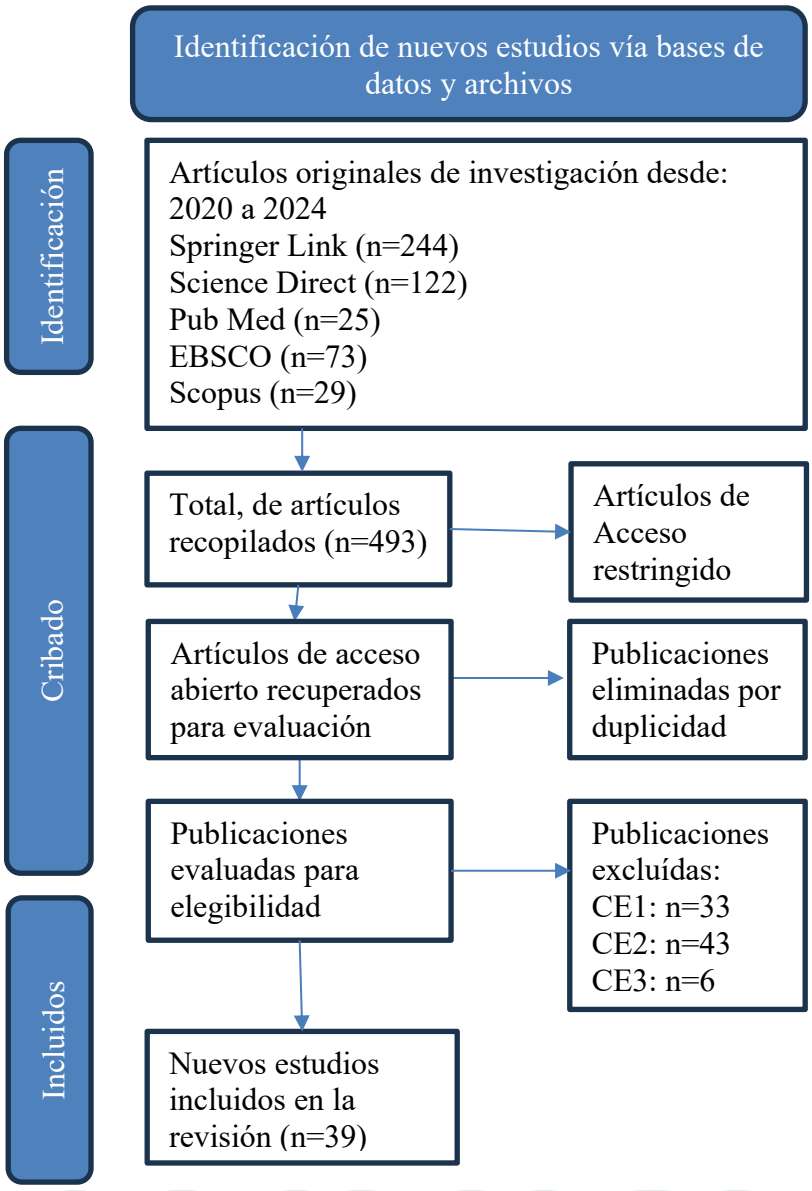
métodos de micropropagación distintos a la embriogénesis somática. Asimismo, el criterio CE3 excluyó 6 artículos que no analizaban avances, desafíos ni aplicaciones de la embriogénesis somática, limitándose únicamente a aspectos descriptivos o teóricos.

Tras la aplicación de los criterios de exclusión, el conjunto de publicaciones se redujo a 39 artículos. Estos estudios seleccionados constituyen trabajos fundamentales que abordan de manera precisa y detallada los enfoques más recientes y relevantes de la embriogénesis somática en la micropropagación clonal de plantas, proporcionando así una base sólida para la revisión y el análisis en profundidad de la literatura científica disponible sobre el tema.

Los 39 estudios incluidos corresponden al periodo 2020–2024. Las referencias bibliográficas ubicadas fuera de ese intervalo se emplearon únicamente como fuentes de apoyo conceptual o para la discusión y no forman parte del corpus analítico de la RSL. Asimismo, la imposibilidad de recuperar 357 textos completos por restricciones de acceso constituye una limitación del proceso de selección, ya que la disponibilidad del texto completo puede introducir sesgo de accesibilidad y debe considerarse al interpretar la exhaustividad de la revisión.

Figura 1

Diagrama PRISMA del proceso de selección de estudios de la RSL



Fuente: Elaboración propia

El diagrama PRISMA presentado resume de manera visual y ordenada el recorrido completo seguido para depurar y seleccionar los estudios que conformaron la revisión sistemática, mostrando cómo la búsqueda inicial en diversas bases de datos generó un volumen amplio de publicaciones que fueron progresivamente filtradas hasta obtener un conjunto final pertinente y coherente con los objetivos del estudio. En la etapa de identificación se evidencia la recopilación exhaustiva de artículos originales dentro del rango temporal definido, mientras que en el cribado se aprecia el proceso de depuración mediante la identificación de informes no recuperados por restricciones de acceso, seguida

de la eliminación de duplicados, lo que permitió avanzar hacia una evaluación más rigurosa del material disponible. La fase de elegibilidad refleja el análisis crítico de los artículos restantes, donde se aplicaron criterios precisos para descartar investigaciones que no aportaban información relevante a la embriogénesis somática, culminando en la selección de los estudios más sólidos y representativos. Así, la figura permite comprender de un solo vistazo la estructura metodológica utilizada para garantizar que los 39 artículos finales sean realmente consistentes, actuales y adecuados para sustentar el análisis científico desarrollado en esta revisión.

3. RESULTADOS

En la presente RSL, los resultados se agruparon en dos secciones: la primera corresponde a los datos bibliométricos de los estudios seleccionados, y la segunda a las características de los estudios en función de las preguntas planteadas para cada componente del modelo PCC. Este ordenamiento permitió no solo describir la producción científica reciente relacionada con la embriogénesis somática, sino también analizar en profundidad los enfoques experimentales, las especies estudiadas y las aplicaciones reportadas en la literatura. En el caso de los datos bibliométricos, se examinaron variables como las revistas de publicación, el año de aparición, la procedencia geográfica de los estudios y las tendencias editoriales, lo que permitió identificar los núcleos de investigación más activos y las líneas temáticas predominantes durante el periodo 2020–2024.

En la segunda sección, el análisis basado en el modelo PCC facilitó una comprensión estructurada de la micropropagación clonal mediante embriogénesis somática, al permitir categorizar las especies vegetales según su interés económico, ambiental o medicinal, describir los protocolos y técnicas utilizados para la inducción, maduración y regeneración de embriones somáticos, y sistematizar los principales avances, limitaciones, desafíos y aplicaciones identificadas en los estudios. De este modo, ambas secciones se integran para ofrecer una visión sólida, coherente y actualizada del estado del arte, fortaleciendo la interpretación general de la embriogénesis somática como una herramienta biotecnológica estratégica para la propagación in vitro.

3.1. Resultados bibliométricos

Para la presentación de los datos bibliométricos de los estudios seleccionados, se consideró agrupar la información en variables como título del artículo, autor(es), nombre de la revista y volumen de publicación, con el fin de describir las principales tendencias de la producción científica reciente.

La Tabla 2 evidencia que la producción científica reciente sobre embriogénesis somática se concentra en un conjunto de revistas especializadas que han servido como plataforma para difundir avances relevantes en regeneración vegetal, destacando entre ellas South African Journal of Botany, que con siete publicaciones se posiciona como la principal fuente de estudios orientados a la inducción de embriones somáticos, el desarrollo de callos embriogénicos y la regeneración de plantas de interés agronómico, forestal y medicinal, lo que confirma su liderazgo en temas de biotecnología vegetal.

Asimismo, la presencia de artículos en revistas como Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, Horticultural Plant Journal, Heliyon y Plant Cell, Tissue and Organ Culture refleja un interés multidisciplinario que abarca desde la optimización de protocolos y la evaluación de reguladores de crecimiento hasta el análisis molecular de la respuesta embriogénica, demostrando que, durante el periodo 2020–2024, la investigación en este campo ha mantenido un crecimiento sostenido y una orientación clara hacia la mejora de técnicas de micropropagación in vitro. La diversidad de autores, especies estudiadas y enfoques experimentales muestra además una tendencia global hacia el perfeccionamiento de metodologías aplicadas a cultivos de alto valor productivo y a la conservación de especies, proporcionando una base sólida y actualizada para comprender el desarrollo contemporáneo de la embriogénesis somática como herramienta biotecnológica.

Tabla 2

Datos bibliométricos de los estudios

Ref.	Autor(es)	Título	Revista	Volumen
(9)	Di Pauli et al.	Optimized somatic embryogenesis and plant regeneration in elite Argentinian sugarcane (Saccharum spp.)	Journal, genetic engineering & biotechnology	19
(10)	Hassan, M.; Allam, M.; Shams El Din, I.; Malhat, M.; Taha, R.	High-frequency direct somatic embryogenesis and plantlet regeneration from date palm immature inflorescences	Journal, genetic engineering & biotechnology	19
(11)	Zanella, L; Degenhardt, J; Steiner, N; Tomasi, J; Rigoni, D; Quoirin, M.	Initiation of somatic embryogenesis in Pinus caribaea var. hondurensis using mature female gametophytes as	South African Journal of Botany	149
(12)	Liu, R; Xue, Y; Ci, H; Gao, J; Wang, S; Zhang, X.	Establishment of highly efficient plant regeneration of Paeonia ostii 'Fengdan' through optimization of callus	Horticultural Plant Journal	8
(13)	Shekhawat, M; Kannan, N; Manokari, M; Priyadharshini, S.	Regeneration of shoots via direct somatic embryogenesis from the	South African Journal of Botany	140

Ref.	Autor(es)	Título	Revista	Volumen
		leaf surface of Scaevola taccada (Gaertn.) Roxb.		
(14)	Taheri-Dehkordi, A; Naderi, R; Martinelli, F; Salami, S.	A robust workflow for indirect somatic embryogenesis and cormlet production in saffron (Crocus sativus L.) and its	Heliyon	6
(15)	Bhusare, P.; John, C.; Bhatt, V.; Nikam, T.	Induction of somatic embryogenesis in leaf and root explants of Digitalis lanata Ehrh.: Direct and indirect method	South African Journal of Botany	130
(16)	Priyadharshini, S; Manokari, M; Shekhawat, M.	In vitro conservation strategies for the critically endangered Malabar River lily (Crinum malabaricum Lekhak & Yadav) using somatic embryogenesis and synthetic seed production	South African Journal of Botany	135
(17)	Solangi, N.; Abul-Soad, A.; Jatoi, M.; Mirani, A.; Markhand, G.	Micropropagation of elite date palm (Phoenix dactylifera L.) cultivars Samany and Bertamoda through immature inflorescence explants	Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences	22
(18)	Ali, D.; Alarifi, S.; Pandian, A.	Somatic embryogenesis and in vitro plant regeneration of Bacopa monnieri (Linn.) Wettst., a potential medicinal water hyssop plant	Saudi Journal Of Biological Sciences	28
(19)	Manokari, M.; Priyadharshini, S.; Cokulraj, M.; Dey, A.; Faisal, M.; Alatar, A.; Alok, A.; Shekhawat, M.	Exogenous implications of silver nitrate on direct and indirect somatic embryogenesis and germination of cold stored synseeds of Vanilla planifolia Jacks. ex-Andrews	South African Journal Of Botany	150

Ref.	Autor(es)	Título	Revista	Volumen
(20)	Shashi; Bhat V.	Plant regeneration via somatic embryogenesis and direct shoot organogenesis of a C4 bioenergy crop Pennisetum pedicellatum Trin.	South African Journal Of Botany	146
(21)	Nabilah, S.; Handoyo, T.; Kim, K.-M.; Ubaidillah, M.	Expression analysis of OsSERK, OsLEC1 and OsWOX4 genes in rice (Oryza sativa L.) callus during somatic embryo development	Biocell	46
(22)	Siddiqui, Z.; Mujib, A.	Vinblastine synthesis under the influence of $CaCl_2$ elicitation in embryogenic cell suspension culture of Catharanthus roseus	South African Journal Of Botany	154
(23)	Arias-Rodríguez L. I.; Rodríguez-Mendiola M.; Arias-Castro C.; Gutiérrez F.; Reséndez D.; Luján M.; Villalobos J.; Mancilla N.	Comparison of Apigenin, Quercetin and Kaempferol Accumulation and Total Flavonoid Content in Leaves, Embryogenic Cultures and Cell Suspension Cultures of Parsley (Petroselinum crispum)	Phyton-International Journal of Experimental Botany	92
(24)	Kiaheirati, H.; Hashemabadi, D.; Kaviani, B.	In vitro propagation of the orchid Phalaenopsis circus via organogenesis and somatic embryogenesis using protocorm and thin cell layer explants	Italian Botanist	18
(25)	Heedchim, W.; Te-chato, S.; Yenchon, S.	Effect of Forchlorfenuron on Somatic Embryo Proliferation and Plantlet Regeneration in Oil Palm SUP-PSU1	Walailak Journal Of Science And Technology	18
(26)	Aurori, A.; Molnar, I.; & Rakosy-Tican, E.	The effect of auxins in inducing organogenesis or somatic	Notulae Botanicae Horti	48

Ref.	Autor(es)	Título	Revista	Volumen
		embryogenesis in mature sunflower zygotic embryo derived apex	Agrobotanici Cluj-Napoca	
(27)	Huynh, T.; Cao T.; Tran H.; Tran T.; Le M.; Tran P.; Nguyen P.	Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf callus with genetic stability validation using SCoT markers in Paramignya trimera, a medicinal plant native to Vietnam	Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca	52
(28)	Umami, N.; Respati, A. N.; Rahman, M. M.; Umpuch, K.; Gondo, T.	Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from the Apical Meristem of Wrukwona Napiergrass (Pennisetum purpureum) Treated with Thidiozuron and Cupric Sulfate	Tropical Animal Science Journal	45
(29)	Stefenon, M.; Pinheiro, M.; de Freitas, F.; Boing da Silva, V.; de Brum Vieira, P.; Damian dos Santos, D.; Guerra, M.	In vitro callogenesis for the induction of somatic embryogenesis and antioxidant production in Eugenia uniflora	Biotecnología Vegetal	20
(30)	López, V.; Gutiérrez, F.; Silverio, M.; Lecona, C.	Disminución de la oxidación e inducción de estructuras proembriogénicas en Sideroxylon capiri (A. DC.) Pittier	Revista mexicana de ciencias forestales	15
(31)	Wang, J.; Xia, X.; Qin, G.; Tang, J.; Wang, J.; Zhu, W.; Qian, M.; Li, J.; Cui, G.; Yang, Y.; & Qian, J.	Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from Stem Explants of Pomegranate	Horticulturae	9

Ref.	Autor(es)	Título	Revista	Volumen
(47)	Heedchim, W.; Niha, C.; Yenchon, S.; Techato, S.	Development of somatic embryogenesis of mangrove fan palm (Licuala spinosa Thunb.) from culturing immature zygotic embryo	Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization	21
(32)	Chagas, E.; Crane, J.; Chagas, P.; Vendrame, W.; Costa, B.; Neto, A.; Araújo, M.; Machado, C.; Moura, E.	Somatic Embryogenesis of Myrciaria dubia (Kunth.) McVaugh	HortScience	58
(33)	Ossai, C.; Balogun, M.; Maroya, N.; Sonibare, M.	Quantification of endogenous phytochemicals and determination of their exogenous effects in somatic embryogenesis pathways of white and water yams	In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant	59
(34)	Nekrasova, D.; Povydysh, M.; Pivovarova, N.; Sidorov, K.	Callus Culture of Aralia cordata Thunb.: Obtaining, Selection of Cultivating Conditions, Somatic Embryogenesis Induction	Drug Development & Registration	12
(35)	Murugan, T.; Awasthi, O.; Singh, S.; Chawla, G.; Solanke, A.; Kumar, S.; Jha, G.	Molecular and histological validation of modified in ovulo nucellus culture based high-competency direct somatic embryogenesis and amplitude true-to-the-type plantlet recovery in Kinnow mandarin	Frontiers In Plant Science	14
(36)	Omar, R.; Kushkevych, I.; Abd El-Salam, M.	Induction of somatic embryogenesis and ectopic proliferation in Tecoma stans	In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant	60

Ref.	Autor(es)	Título	Revista	Volumen
		(L.) Juss. ex Kunth cell suspension culture		
(37)	Goyal, S.; Chatterjee, V.; Kulkarni, V.	Plant regeneration through somatic embryogenesis in cell suspensions of Cenchrus ciliaris L.	Plant Methods	19
(38)	Nzama, P.; Myburg, A.; Hills, P.	Synergistic effects of L-glutamine and inorganic nitrogen molar ratios enhance the induction of somatic embryogenesis of Pinus maximinoi H.E. Moore	Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)	157
(39)	Ebrahimi, M.; Habashi, A.; Emadpour, M.; Kazemi, N.	Recovery of virus-free Almond (Prunus dulcis) cultivars by somatic embryogenesis from meristem undergone thermotherapy	Scientific reports	12
(40)	Żabicka, J.; Żabicki, P.; Słomka, A.; Jędrzejczyk-Korycińska, M.; Nowak, T.; Śliwińska, E.; Kapler, A.; Migdałek, G.; Kuta, E.	Genotype-dependent mass somatic embryogenesis: a chance to recover extinct populations of Pulsatilla vulgaris Mill	Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)	146
(41)	Assem, S.; Basry, M.; Taha, T.; El-Aziz, M.; Alwa, T.; Fouad, W.	Development of an in vitro regeneration system from immature inflorescences and CRISPR/Cas9-mediated gene editing in sudangrass	Journal of Genetic Engineering and Biotechnology	21
(42)	Khalifa, A.; Eid, M.; Gaafar, R.; Saad-Allah, K.; Gad, D.	Induction of bioactive constituents and antioxidant enzyme activities in Achillea	In Vitro Cellular &	59

Ref.	Autor(es)	Título	Revista	Volumen
		fragrantissima (Forskal) callus cultures using ZnO nanoparticles	Developmental Biology - Plant	
(43)	Klimek-Chodacka, M.; Kadluczka, D.; Lukasiewicz, A.; Malec-Pala, A.; Baranski, R.; Grzebelus, E.	Effective callus induction and plant regeneration in callus and protoplast cultures of Nigella damascena L.	Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)	143
(44)	Pujari, I.; Thomas, A.; Rai, P.; Satyamoorthy, K.; Babu, V.	In vitro bioproduction and enhancement of moscatilin from a threatened tropical epiphytic orchid, Dendrobium ovatum (Willd.) Kraenzl	3 Biotech	11
(45)	Méndez-Hernández, H.; Galaz-Ávalos, R.; Quintana-Escobar, A.; Pech-Hoil, R.; Collí-Rodríguez, A.; Salas-Peraza, I.; Loyola-Vargas, V.	In Vitro Conversion of Coffea spp. Somatic Embryos in SETIS™ Bioreactor System	Plants	12
(46)	Carrillo-Bermejo, E. A.; Brito-Argáez, L.; Galaz-Ávalos, R. M.; Barredo-Pool, F.; Loyola-Vargas, V.; Aguilar-Hernández, V.	Protein profile changes during priming explants to embryogenic response in Coffea canephora: identification of the RPN12 proteasome subunit involved in the protein degradation	PeerJ	12

La Tabla 3 de frecuencia correspondiente a las editoriales de los 39 estudios incluidos en la presente revisión sistemática permite identificar los principales núcleos editoriales donde se concentra la producción científica reciente sobre embriogénesis somática aplicada a la micropropagación clonal de plantas, lo que ofrece una visión clara del panorama

bibliográfico que sustenta el análisis desarrollado. En este sentido, Springer aparece como la editorial más representativa con ocho publicaciones, seguida por Elsevier y sus variantes editoriales con un total combinado que refleja su rol predominante en la difusión de investigaciones experimentales en biotecnología vegetal; estas editoriales albergan revistas especializadas que publican trabajos centrados en la inducción de embriones somáticos, el desarrollo de callos embriogénicos y la optimización de protocolos de regeneración in vitro, lo que coincide plenamente con los ejes temáticos abordados por la embriogénesis somática.

Asimismo, editoriales como Academic Press Inc., la American Society for Horticultural Science y el Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI) demuestran también un aporte significativo mediante la publicación de estudios orientados a mejorar la eficiencia de los sistemas de cultivo, analizar respuestas moleculares y describir innovaciones metodológicas aplicadas a diversas especies de interés agronómico, forestal y medicinal.

La presencia de editoriales universitarias, institutos científicos y casas editoriales especializadas en botánica, agricultura y biotecnología vegetal completa un escenario amplio y diverso que confirma que la embriogénesis somática es un campo activo y en consolidación, sustentado por una literatura reciente, distribuida internacionalmente y publicada por instituciones vinculadas al avance de la ciencia vegetal. Esta dispersión equilibrada entre editoriales de alto impacto y entidades académicas especializadas refuerza la solidez del corpus bibliográfico seleccionado y garantiza que los resultados de la revisión se basen en fuentes científicas confiables, actualizadas y pertinentes para comprender el estado actual de la embriogénesis somática como herramienta biotecnológica para la micropropagación in vitro.

Tabla 3

Artículos según editoriales

Editorial (Publisher)	Frecuencia
Springer	8
Elsevier	5
Elsevier / SAAB	3
Elsevier B.V.	2
American Society for Horticultural Science	2
Academic Press Inc.	2
Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)	2
Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias	1

Editorial (Publisher)	Frecuencia
Nature Research	1
BioMed Central Ltd	1
Frontiers Media SA	1
Simferopolskii bulvar	1
Cambridge University Press	1
Bogor Agricultural University	1
Instituto de Biotecnología de las Plantas	1
Walailak University	1
Pensoft Publishers	1
Tech Science Press	1
ScienceDirect	1
Elsevier B.V. / King Saud University	1
KeAi Communications Co.	1
PeerJ Inc.	1
TOTAL	39

Además, en el análisis bibliométrico también se examinó la procedencia geográfica de los estudios incluidos, observándose un claro predominio de India, país que registró nueve publicaciones (13,15,16,18–20,22,35,44), consolidándose como el principal generador de conocimiento en embriogénesis somática durante el periodo evaluado. Esta alta producción científica evidencia el fuerte interés de la comunidad india por el desarrollo de técnicas avanzadas de propagación vegetal, especialmente en cultivos de importancia agrícola, medicinal y biotecnológica.

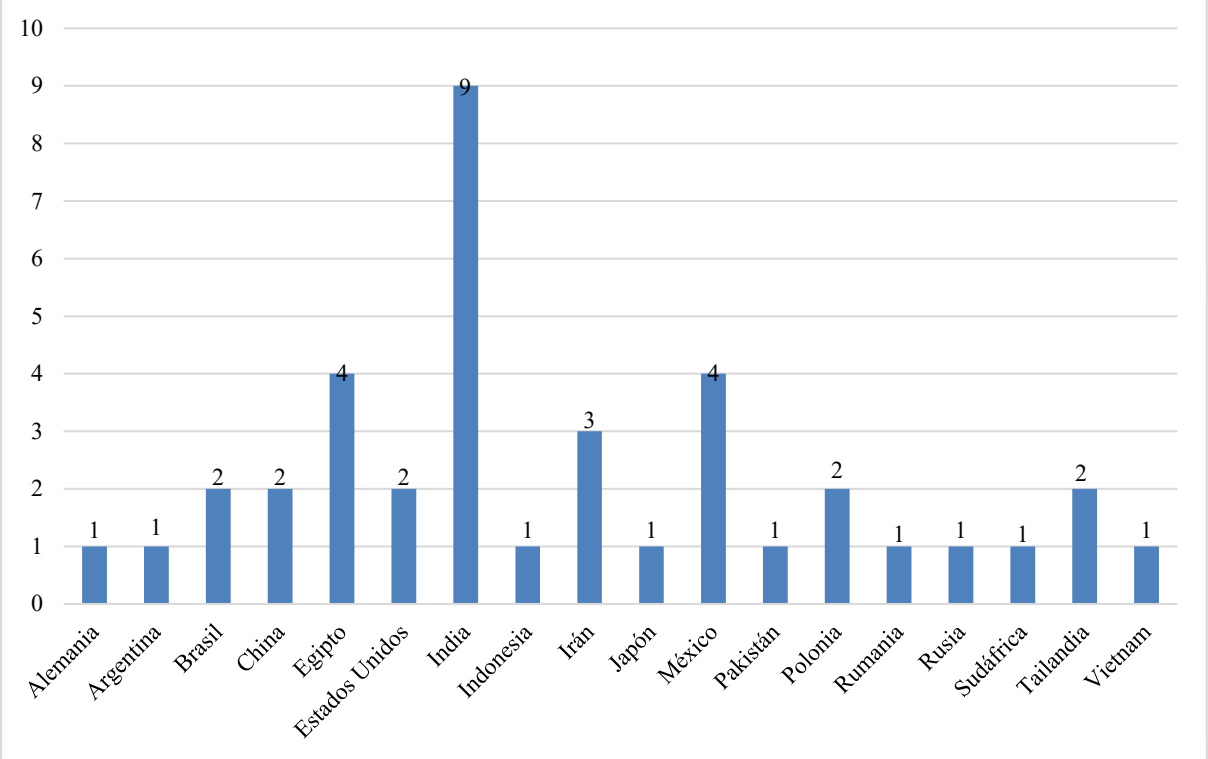
Por otro lado, países como Egipto, México e Irán mostraron una participación igualmente destacable, con cuatro y tres estudios cada uno, lo que refleja la creciente expansión de la investigación en este campo hacia regiones con amplias necesidades de mejora en productividad vegetal y conservación de especies. La presencia de trabajos provenientes de Brasil, China, Polonia, Rumania, Rusia, Sudáfrica, Tailandia, Vietnam, entre otros, reafirma la diversidad geográfica en la generación de aportes científicos sobre la embriogénesis somática.

De este modo, la distribución presentada en la Figura 2 evidencia que la investigación en esta área no se concentra en un solo continente, sino que se desarrolla de manera amplia y

multidisciplinaria, involucrando a países asiáticos, latinoamericanos, africanos y europeos. Esta heterogeneidad regional no solo enriquece la discusión científica, sino que también demuestra que la embriogénesis somática es una prioridad global, asociada a la necesidad de mejorar la propagación clonal, optimizar cultivos estratégicos y fortalecer la seguridad alimentaria y ambiental en distintos contextos socioeconómicos.

Figura 2

Artículos según país de origen



Por otro lado, el análisis temporal de las publicaciones muestra una tendencia claramente ascendente en la producción científica sobre embriogénesis somática entre los años 2020 y 2024. Si bien los años 2020, 2021 y 2022 presentan valores similares con 7, 7 y 6 estudios, respectivamente, lo que refleja una actividad investigativa relativamente estable durante el inicio del periodo analizado, es en 2023 cuando se observa un incremento notable, alcanzando 13 publicaciones (17,22,23,25,31–35,37,41,42,45), la cifra más alta registrada en toda la revisión.

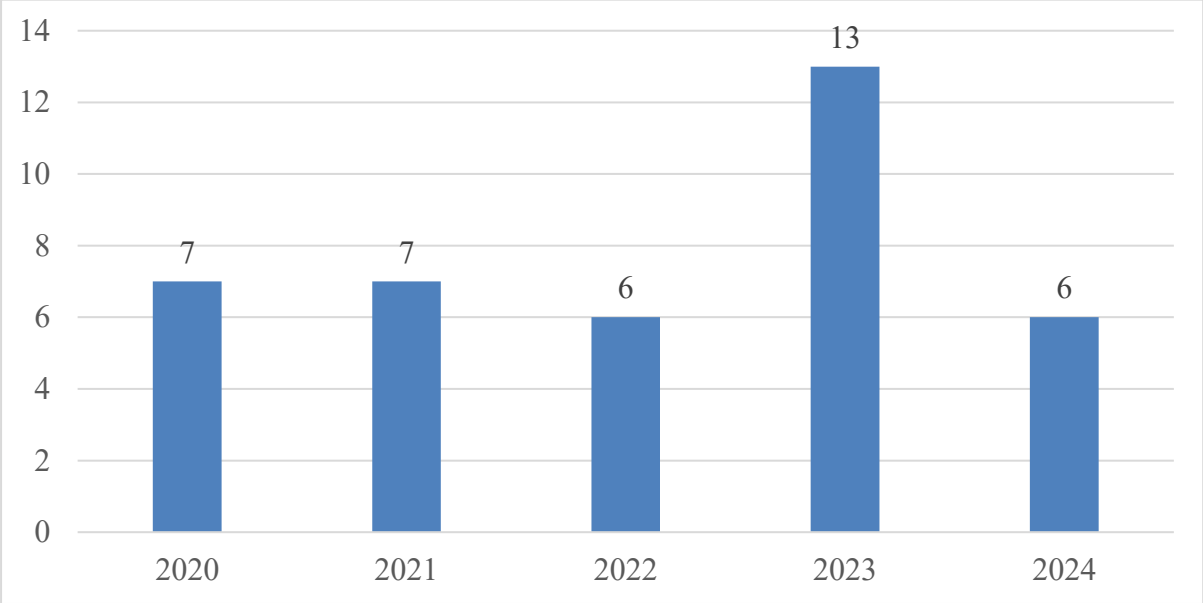
Este aumento sustancial en 2023 sugiere un fortalecimiento del interés global por la embriogénesis somática como herramienta biotecnológica, probablemente impulsado por avances metodológicos recientes, una mayor atención a la propagación clonal de cultivos

estratégicos y la necesidad de generar alternativas eficientes frente a los desafíos agrícolas contemporáneos. La consolidación de líneas de investigación, junto con el surgimiento de nuevas aproximaciones experimentales, contribuiría a explicar este repunte significativo.

Cabe añadir que aunque en 2024 se registra una ligera disminución con 6 publicaciones, esta cifra continúa dentro del rango observado en los primeros años, lo que confirma que la investigación en esta área mantiene una continuidad estable. De este modo, la distribución descrita en la Figura 3 revela que el interés científico en la embriogénesis somática ha seguido una trayectoria sostenida, alcanzando su punto más alto en 2023, lo que podría anticipar el establecimiento de nuevas líneas de investigación y mayores aplicaciones biotecnológicas en los años posteriores.

Figura 3

Artículos según año de publicación



Por otro lado, para la identificación y análisis de las palabras clave presentes en los estudios seleccionados, se utilizó el software VOSviewer, el cual permitió identificar de manera visual las conexiones conceptuales predominantes dentro de la literatura revisada. El diagrama neuronal obtenido revela una estructura organizada en tres clústeres principales, cada uno asociado a enfoques específicos relacionados con la embriogénesis somática.

En primer lugar, se observa un clúster central de color verde que agrupa términos estrechamente vinculados con los procesos de cultivo in vitro, tales como culture, species e in vitro propagación, lo que evidencia la relevancia de las condiciones de cultivo y de la selección de explantes como elementos fundamentales para el establecimiento de la

embriogénesis somática. Este clúster refleja la importancia de los estudios orientados a la optimización general de los sistemas de cultivo y la adaptación de protocolos a distintas especies vegetales.

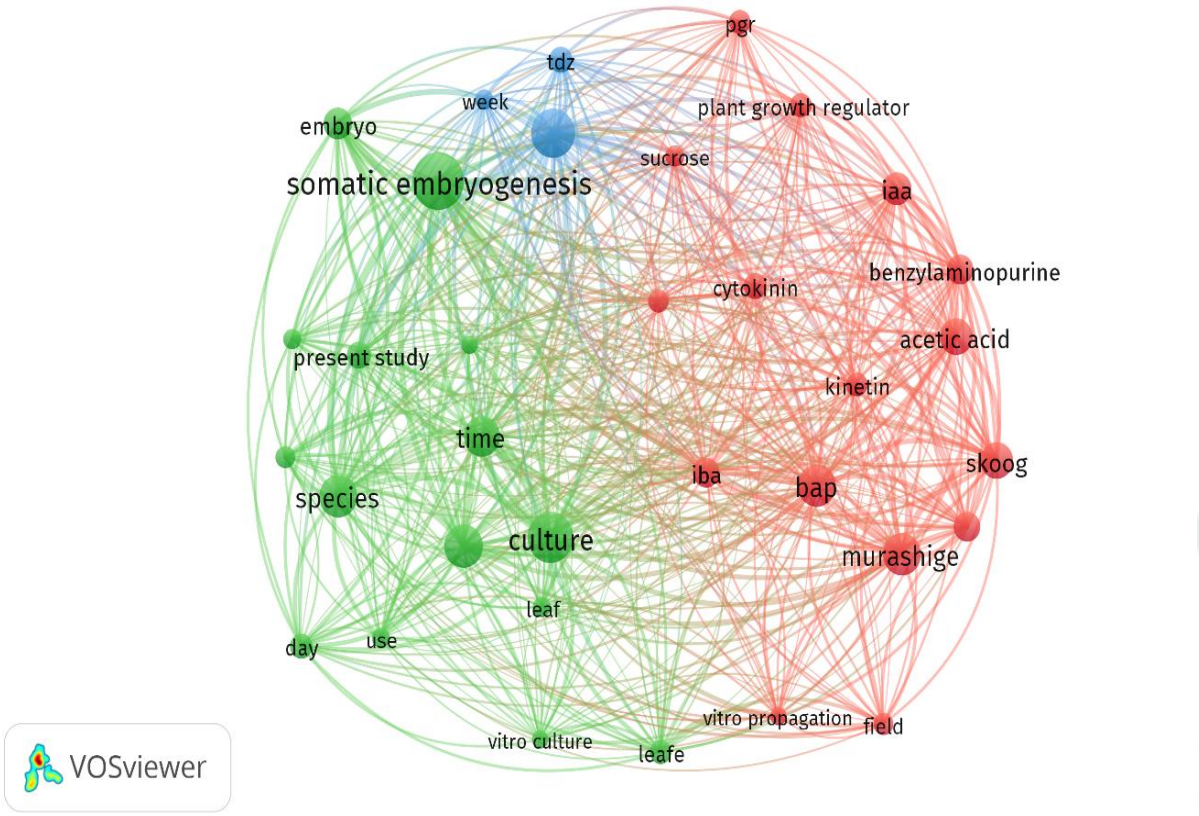
El clúster azul, por su parte, concentra conceptos asociados directamente al proceso embriogénico, destacando términos como *somatic embryogenesis*, *embryo* y *present study*. La ubicación central de *somatic embryogenesis* dentro del mapa confirma su papel como eje articulador de toda la red conceptual, mientras que las conexiones con palabras que representan etapas del desarrollo embrionario sugieren que la literatura reciente continúa enfocándose en comprender los mecanismos celulares y fisiológicos que regulan esta vía de regeneración.

Asimismo, el clúster rojo agrupa términos relacionados con reguladores de crecimiento, tales como IAA, 2,4-D, BAP, cytokinin y *plant growth regulator*. Este clúster refleja claramente la relevancia que tienen las fitohormonas y su manejo en los protocolos experimentales, lo que confirma que la regulación hormonal sigue siendo uno de los factores más determinantes para inducir, mantener y diferenciar tejidos embriogénicos en diversas especies vegetales.

De este modo, la configuración del mapa neuronal evidencia que las investigaciones recientes priorizan la optimización de medios de cultivo, el papel de los reguladores de crecimiento y la comprensión del proceso embriogénico como elementos clave para mejorar la eficiencia de la propagación clonal in vitro. Asimismo, la interacción densa entre los clústeres demuestra que los avances en embriogénesis somática se sustentan en un enfoque multidisciplinario que integra componentes fisiológicos, moleculares y técnicos para lograr protocolos cada vez más efectivos y aplicables a un mayor número de especies.

Figura 4

Diagrama neuronal mediante VOSviewer



3.2. Características de los estudios

De acuerdo con las características de las investigaciones, estos fueron organizados según los hallazgos más relevantes obtenidos a partir del análisis de la literatura.

La información se estructuró conforme a los componentes del modelo PCC (Población, Concepto y Contexto), con el propósito de describir las tendencias metodológicas y los enfoques experimentales más utilizados en la embriogénesis somática aplicada a la micropropagación in vitro de plantas.

En el componente **Población (P),** se identificaron las especies vegetales empleadas en los estudios, clasificadas según su importancia económica, ambiental o medicinal.

La Tabla 4 presenta la clasificación de las especies vegetales estudiadas en los artículos incluidos en la revisión, organizadas según su uso o interés económico. Esta categorización permite identificar los grupos de plantas más abordados en las investigaciones recientes sobre embriogénesis somática, así como reconocer las áreas productivas y biotecnológicas donde esta técnica ha tenido mayor aplicación.

Tabla 4

Plantas estudiadas según su uso o interés económico

Referencia	Uso o interés económico	Plantas
E01 (9)	**Alimenticias** (*n* =16)	Caña de azúcar (*Saccharum spp*); Palmera datilera (*Phoenix dactylifera L*); Palma datilera, Vainilla (*Vanilla planifolia*); Arroz javanés (*Oryza sativa L.*), Perejil (*Petroselinum crispum*), Palma aceitera (*Elaeis guineensis Jacq.*), Girasol (*Helianthus annuus L.*), Cereza brasileña (*Eugenia uniflora L.*), Granado (*Punica granatum L.*), Camu-camu (*Myrciaria dubia*), Ñame blanco y ñame de agua (*Dioscorea rotundata Poir. y Dioscorea alata L.*), Kinnow (*Citrus nobilis Lour.* × *Citrus deliciosa Ten.*), Almendro (*Prunus dulcis*), Café (*Coffea arabica y Coffea canephora*)
(9,10,17,19,21, 23, 25,26,29,31, 32 33,35, 39,45,46)		
E02 (10)	**Maderables** (*n* =3)	Pino tropical (*Pinus caribaea var. Hondurensis*), Tempisque (*Sideroxylon capiri*), Pino tropical (*Pinus maximinoi H.E. Moore*)
E03 (11)	**Ornamentales** (*n*=6)	Peonía de árbol (*Paeonia ostii*), Dedalera (*Digitalis lanata Ehrh.*), Lirio del río Malabar (*Crinum malabaricum*), Palma de abanico de manglar (*Licuala spinosa Thunb.*), Flor de Pascua (*Pulsatilla vulgaris Mill.*), Orquídea epífita (*Dendrobium ovatum*)
E04 (12)	**Silvestres** (*n*=3)	Naupaka de playa (*Scaevola taccada (Gaertn.) Roxb.*), Orquídea (*Phalaenopsis circus*), Udo (*Aralia cordata Thunb.*)
E05 (13)	**Aromáticas** (*n*=1)	Azafrán y especies silvestres (*Crocus sativus L. y C. caspius, y C. speciosus*)
E06 (14)	**Medicinales** (*n*=6)	Brahmi (*Bacopa monnieri (L.) Wettst.*), Sadabahar (*Catharanthus roseus*), Xao tam phan (*Paramignya trimera (Oliv.) Guillaum*), Bignonia amarilla (*Tecoma stans (L.) Juss. ex Kunth*), Qaysoom (*Achillea fragrantissima (Forssk.) Sch. Bip.*), Amor en la niebla (*Nigella damascena L.*)

Referencia	Uso o interés económico	Plantas
E07 (15)	**Forrajeras** (*n*=4)	Pasto Deenanath (*Pasto Deenanath Pennisetum pedicellatum Trin*), Pasto elefante (*Pennisetum purpureum cv. Wrukwona*), Pasto Buffel (*Cenchrus ciliaris L.*), Pasto Sudán (*Sorghum sudanense*)

El análisis de las especies vegetales incluidas en los estudios revisados permite identificar una clara tendencia hacia la investigación de plantas de alto valor productivo, especialmente aquellas vinculadas a la agricultura, la industria alimentaria y la medicina tradicional. Según se observa en la tabla, las especies alimenticias constituyen el grupo más representado, con 16 estudios, lo que evidencia la prioridad de la biotecnología vegetal en optimizar la propagación clonal de cultivos estratégicos como caña de azúcar, palma datilera, arroz, girasol, camu-camu, café, almendro y diversos frutales. Esta predominancia sugiere una fuerte relación entre la embriogénesis somática y la necesidad global de mejorar la productividad agrícola, favorecer la multiplicación clonal con mayor uniformidad, sin asumir una fidelidad genética absoluta y responder a la creciente demanda de alimentos.

En segundo lugar, destacan las especies ornamentales, con 6 investigaciones, que incluyen plantas de alto valor comercial como peonía, orquídeas, dedalera y lirio del río Malabar. La presencia de este grupo refleja el interés por desarrollar técnicas eficientes de propagación para especies apreciadas por su valor estético, cuya reproducción convencional suele ser limitada o lenta.

Las plantas medicinales, también con 6 estudios, representan otro grupo relevante, abarcando especies utilizadas ampliamente en la fitoterapia y la industria farmacéutica, tales como *Bacopa monnieri, Catharanthus roseus, Paramignya trimera* y *Achillea fragrantissima*. La inclusión de estas plantas confirma el potencial de la embriogénesis somática para la producción masiva y controlada de compuestos bioactivos, así como para preservar la variabilidad genética de especies con alta demanda medicinal.

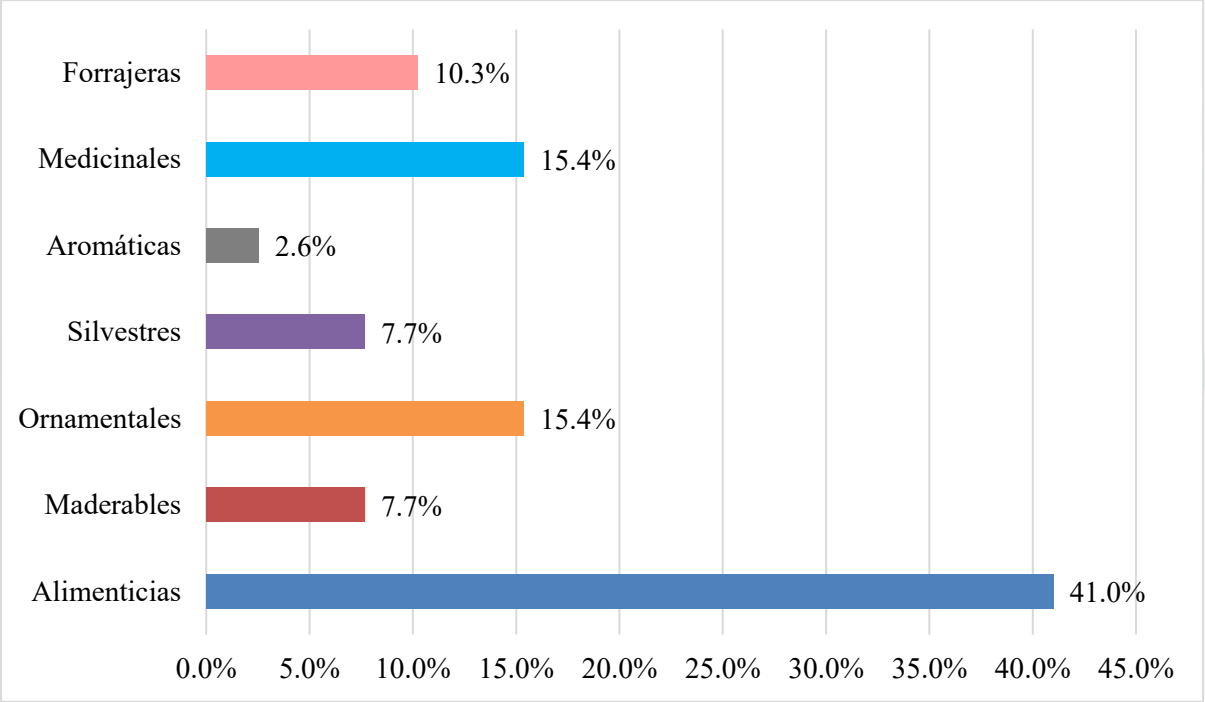
Asimismo, se identificaron especies forrajeras en 4 estudios, entre las que se encuentran pastos de importancia agronómica como Pennisetum pedicellatum, Pennisetum purpureum y Cenchrus ciliaris. En este caso, la embriogénesis somática se perfila como una herramienta clave para la mejora de cultivos destinados a la ganadería, permitiendo incrementar la disponibilidad de biomasa y la tolerancia a condiciones adversas.

Por otro lado, las especies maderables representan 3 estudios, destacándose árboles como *Pinus caribaea y Pinus maximinoi*, cuya propagación eficiente es fundamental para programas de reforestación, manejo forestal sostenible y mitigación de la pérdida de biodiversidad. Finalmente, se registraron especies silvestres y aromáticas en proporciones menores, pero igualmente relevantes, ya que muestran la aplicación de la embriogénesis somática en la conservación de plantas nativas, en la producción de metabolitos aromáticos y en la recuperación de especies en peligro.

De este modo, la distribución observada en la tabla evidencia que la embriogénesis somática es una técnica versátil y ampliamente aplicada en diversos sectores productivos. Su utilidad se extiende desde la agricultura y la industria alimentaria, hasta la medicina, la conservación ambiental y el manejo forestal, lo que reafirma su importancia como herramienta biotecnológica para responder a múltiples necesidades científicas y socioeconómicas.

Figura 5

Especies de plantas estudiadas según su uso o interés



También se evaluó la distribución de las especies vegetales estudiadas según su uso o interés económico. Según la Figura 5, el análisis de la distribución de las especies vegetales incluidas en los estudios revisados revela una clara predominancia de plantas alimenticias, las cuales representan el 41.0% del total. Este hallazgo refleja el fuerte interés de la biotecnología vegetal por mejorar la propagación clonal de cultivos esenciales para la seguridad alimentaria y la producción agrícola a gran escala. En segundo lugar, se

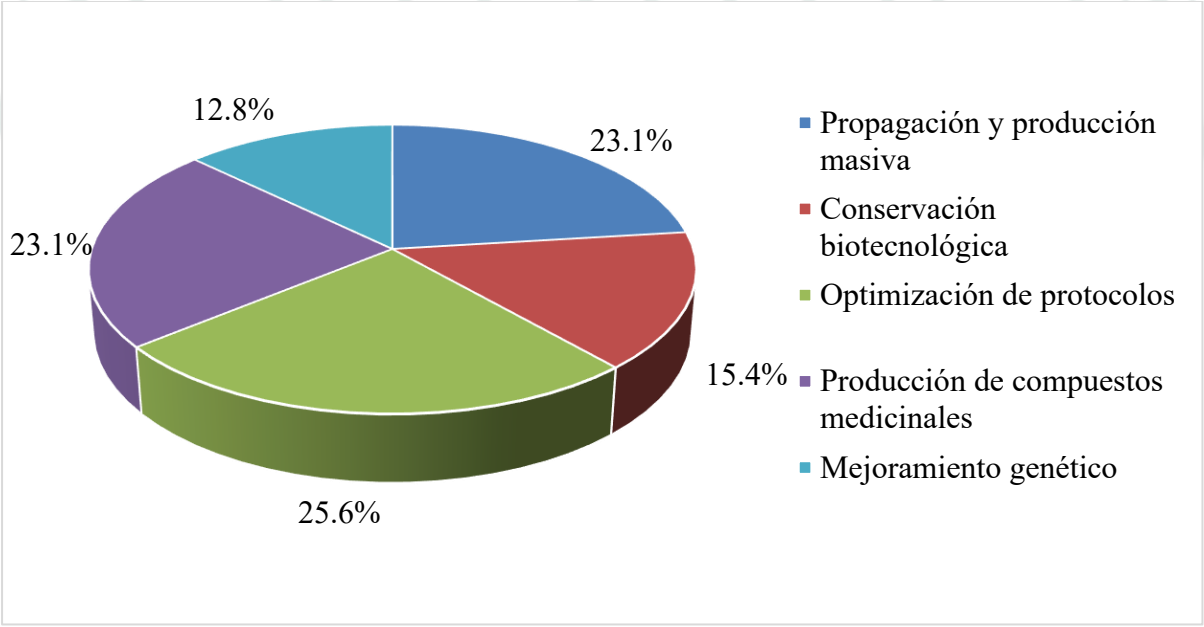
encuentran las especies ornamentales y medicinales, ambas con 15.4%, lo que evidencia su relevancia tanto en el mercado internacional de plantas de valor estético como en la industria farmacéutica y en la producción de metabolitos de interés terapéutico.

Las especies forrajeras representan el 10.3%, destacando su importancia en sistemas ganaderos que demandan materiales vegetales de alta calidad y rápido crecimiento. Por su parte, las especies silvestres y maderables registran un 7.7% cada una, reflejando su relevancia en programas de conservación, restauración ecológica y manejo forestal sostenible. En menor proporción, las especies aromáticas alcanzan un 2.6%, lo que sugiere un interés específico, pero más limitado, posiblemente asociado a la producción de aceites esenciales y compuestos volátiles.

De este modo, estos resultados evidencian que la embriogénesis somática se aplica principalmente a cultivos de interés agrícola, medicinal y biotecnológico, resaltando su papel estratégico en la propagación eficiente de plantas con alto valor económico, ecológico y productivo. Asimismo, la diversidad de categorías muestra la versatilidad de esta técnica para abordar necesidades en distintos sectores, desde la producción de alimentos hasta la conservación de especies y el mejoramiento genético.

Figura 6

Propósito de la investigación



Según la Figura 6, el análisis de los propósitos declarados en los estudios revisados muestra que la optimización de protocolos constituye el objetivo más frecuente, representando el 25.6% del total (19,21,25,26,31–33,35,36,46). Este predominio refleja la necesidad de

perfeccionar las condiciones experimentales que permiten inducir, madurar y regenerar embriones somáticos con mayor eficiencia, especialmente en especies recalcitrantes o de difícil manejo in vitro.

En segundo lugar, se observa que tanto la propagación y producción masiva como la producción de compuestos medicinales alcanzan un 23.1% cada una. Esto indica que una parte importante de las investigaciones busca aprovechar la embriogénesis somática como un método para generar grandes cantidades de plantas clonalmente homogéneas, cuya fidelidad genética debe verificarse según el sistema empleado, así como para incrementar la biosíntesis de metabolitos de alto valor farmacéutico. Ambos enfoques evidencian el potencial de esta técnica para responder a necesidades productivas y a la demanda de recursos biomédicos.

Por otro lado, los estudios orientados al mejoramiento genético representan el 12.8%, destacando el uso de la embriogénesis somática como plataforma para la introducción de variaciones controladas, la aplicación de herramientas de edición génica o la regeneración de plantas transformadas. Finalmente, la conservación biotecnológica, con un 15.4%, aunque menor en comparación con otros propósitos, subraya la relevancia de esta técnica para la preservación de especies amenazadas, el mantenimiento de germoplasma y la generación de bancos biotecnológicos de alto valor ecológico.

Así, estos resultados muestran que la embriogénesis somática es una herramienta versátil aplicada en múltiples ámbitos, desde la producción industrial hasta la conservación y el mejoramiento genético. Su amplio espectro de funciones confirma su creciente importancia en la biotecnología vegetal contemporánea y su potencial para convertirse en una estrategia clave frente a los desafíos agrícolas actuales.

En el componente **Concepto (C)** se llevó a cabo un análisis detallado de las técnicas de embriogénesis somática aplicadas en los estudios revisados, con el propósito de identificar las metodologías predominantes y comprender las razones experimentales que sustentan su elección. Los resultados revelan que la embriogénesis somática indirecta constituye la técnica más empleada en la mayoría de los trabajos, lo cual se atribuye a su capacidad para generar embriones a partir de callos intermedios, permitiendo un manejo más flexible de los tejidos, una mayor capacidad de proliferación y una respuesta embriogénica más estable en diferentes especies vegetales. Además, este enfoque facilita la acumulación de tejido embriogénico y la estandarización de etapas de inducción, maduración y conversión, factores esenciales para obtener plantas regeneradas con altas tasas de éxito.

En contraste, la embriogénesis somática directa fue utilizada por un menor número de investigaciones, aunque sigue siendo un enfoque relevante debido a que permite la formación de embriones directamente desde el explante sin pasar por una fase de callo, lo que reduce el riesgo de variación somaclonal y favorece una regeneración más rápida y genéticamente fiel a la planta madre. También se registraron estudios que emplearon técnicas combinadas, integrando procesos directos e indirectos en función de la respuesta de cada especie y de las condiciones hormonales aplicadas. Asimismo, algunos trabajos recurrieron específicamente a la inducción de callo embriogénico, una etapa clave para especies recalcitrantes o para protocolos que buscan maximizar la producción de embriones en etapas tempranas.

Tabla 5

Técnicas de Embriogénesis Somática

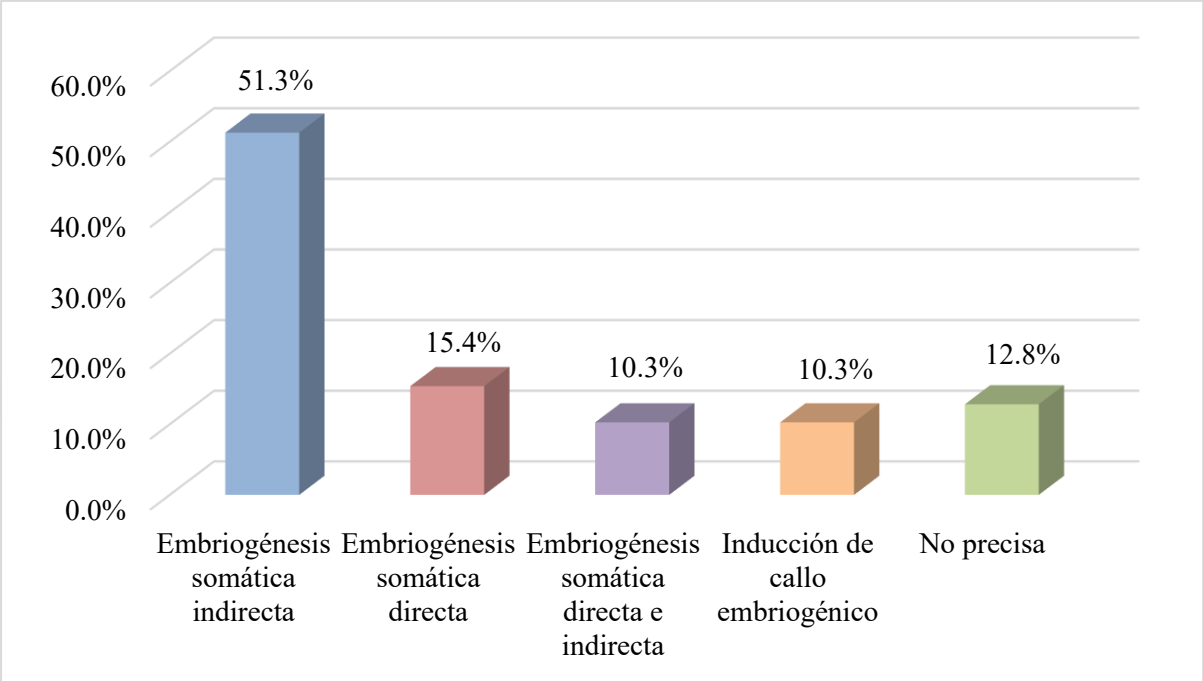
ID / Ref.	Autor	ESI	ESD	ESDI	ICE	NP
E01 (9)	Di Pauli et al.	X				
E02 (10)	Hassan et al.		X			
E03 (11)	Zanella et al.					X
E04 (12)	Liu et al.	X				
E05 (13)	Shekhawat et al.		X			
E06 (14)	Taheri-Dehkordi et al.	X				
E07 (15)	Bhusare et al.			X		
E08 (16)	Priyadharshini et al.		X			
E09 (17)	Solangi et al.	X				
E10 (18)	Ali et al.	X				
E11 (19)	Manokari et al.			X		
E12 (20)	Shashi et al.	X				
E13 (21)	Nabilah et al.	X				
E14 (22)	Siddiqui et al.				X	
E15 (23)	Arias-Rodríguez et al.					X

ID / Ref.	Autor	ESI	ESD	ESDI	ICE	NP
E16 (24)	Kiaheirati et al.					X
E17 (25)	Heedchim et al.	X				
E18 (26)	Aurori et al.					X
E19 (27)	Huynh et al.					X
E20 (28)	Umami et al.				X	
E21 (29)	Stefenon, V	X				
E22 (30)	López et al.				X	
E23 (31)	Wang et al.	X				
E24 (47)	Heedchim et al.	X				
E25 (32)	Chagas et al.	X				
E26 (33)	Ossai et al.	X				
E27 (34)	Nekrasova et al.	X				
E28 (35)	Murugan et al.		X			
E29 (36)	Omar et al.	X				
E30 (37)	Goyal et al.	X				
E31 (38)	Nzama et al.	X				
E32 (39)	Ebrahimi et al.	X				
E33 (40)	Żabicka et al.			X		
E34 (41)	Assem et al.	X				
E35 (42)	Khalifa et al.				X	
E36 (43)	Klimek-Chodacka et al.	X				
E37 (44)	Pujari et al.		X			
E38 (45)	Méndez-Hernández et al.			X		
E39 (46)	Carrillo-Bermejo et al.		X			

* ESI: Embriogénesis somática indirecta; ESD: Embriogénesis somática directa; ESDI: Embriogénesis somática directa e indirecta; ICE: Inducción de callo embriogénico; NP: No precisa.

Figura 7

Técnicas de Embriogénesis Somática



La Tabla 5 y Figura 7 muestran la distribución de las técnicas de embriogénesis somática empleadas en los estudios analizados, evidenciando una clara predominancia de la embriogénesis somática indirecta, utilizada en el 51.3% de las investigaciones (9,12,14,17,18,20,21,25,29,31–34,36–39,41,43,47). Este resultado confirma que la vía indirecta se ha consolidado como el enfoque metodológico más recurrente, principalmente por su capacidad de generar embriones a partir de callos intermedios, facilitar la proliferación de tejido embriogénico y permitir un mayor control sobre las condiciones de inducción y diferenciación (48). Su eficiencia para regenerar plantas completas en diversas especies vegetales la convierte en la estrategia más versátil y confiable dentro de los protocolos de micropropagación in vitro

En segundo lugar, la embriogénesis somática directa aparece en el 15.4% de los estudios, una proporción menor pero significativa, dado que este método ofrece la ventaja de minimizar la variación somaclonal y disminuir la duración del proceso al formar embriones directamente desde el explante. No obstante, su aplicación suele estar limitada a especies o tejidos con alta competencia embriogénica, lo que explica su menor frecuencia respecto a

la vía indirecta.

Asimismo, un 10.3% de los trabajos empleó técnicas combinadas, integrando procesos directos e indirectos según la respuesta de cada especie y las condiciones fisiológicas requeridas para la formación de embriones somáticos. Esta combinación evidencia la flexibilidad metodológica necesaria para optimizar protocolos en especies que presentan comportamientos variables o recalcitrantes.

De manera similar, otro 10.3% de los estudios recurrió específicamente a la inducción de callo embriogénico, una fase esencial para especies en las que se busca maximizar la producción de tejido competente antes de iniciar la diferenciación embrionaria. Y, el 12.8% de las investigaciones no especificó con detalle la técnica utilizada, lo cual pone de manifiesto cierta heterogeneidad en la presentación metodológica de algunos trabajos y subraya la importancia de estandarizar los reportes científicos en este ámbito.

Por otro lado, en la Tabla 6 se sintetizan los distintos protocolos experimentales empleados en los estudios revisados para la inducción, maduración y regeneración de embriones somáticos. Estos procedimientos muestran una notable variabilidad, tanto en la composición de los medios de cultivo como en el tipo y la concentración de los reguladores de crecimiento utilizados. Asimismo, se observan diferencias importantes en las condiciones de cultivo in vitro, especialmente en lo referente a la iluminación, la temperatura, el fotoperiodo y el uso de aditivos o agentes antioxidantes.

En términos generales, la revisión evidencia que cada especie vegetal requiere ajustes específicos en el medio de cultivo, así como combinaciones particulares de auxinas y citocininas para inducir una respuesta embriogénica eficiente. Del mismo modo, se identifican estrategias diferenciadas para favorecer la maduración embrionaria, tales como el uso de sorbitol, agentes osmóticos, extractos naturales o variaciones en la intensidad lumínica (49). Además, varios estudios integran fases adicionales, como la encapsulación de embriones, la aclimatación progresiva o la validación genética y fisiológica del material regenerado.

Tabla 6

Protocolos de los estudios

ID / Ref.	Autor	Protocolos
E01 (9)	Di Pauli et al.	Inducción en oscuridad con 2,4-D (3 mg/L), maduración con 1 mg/L 2,4-D; regeneración sin 2,4-D + IBA (5 mg/L), luz 16/8 h
E02 (10)	Hassan et al.	MS + 1–2 mg/L picloram + 0.25 mg/L 2iP + 0.25 mg/L BA; maduración con 0.1 mg/L picloram + ABA + 2iP; aclimatación exitosa con solución MS completa
E03 (11)	Zanella et al.	Medio QL + 10 mM 2,4-D + 4 mM BAP + 0.1 g/L FA; condiciones oscuras a 23 °C ± 2; evaluación histoquímica y expresión génica (SERK-1, GER-1)
E04 (12)	Liu et al.	Mejor resultado con 1/4 de embrión maduro en medio WPM + 2.5 mg/L 2,4-D + 0.1 mg/L 6-BA; brotes inducidos con 1.0 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L GA_3; raíces con 3.0 mg/L extracto vegetal + 2.0 mg/L IBA + 1.5 mg/L IAA
E05 (13)	Shekhawat et al.	MS + 2.0 mg/L BAP (92% respuesta); proliferación con 0.25 mg/L BAP + 0.15 mg/L IAA; enraizamiento con 2.0 mg/L IBA; supervivencia del 100% tras aclimatación
E06 (14)	Taheri-Dehkordi et al.	Desinfección: Protocolo 6 (túnicas removidas, lavado, etanol 70%, fungicida Rovral-TS 0.3%, $HgCl_2$ 0.1% y 0.05%, Domestos 10%). Inducción: MS + 10.18 µM 2,4-D + 4.44 µM BAP (sin TDZ, bajo costo). Conversión: MS + 5.37 µM NAA + 8.88 µM BAP
E07 (15)	Bhusare et al.	MS + Kin + IBA (2 mg/L cada uno) para inducción directa (100% respuesta, 11.3 SE/explante); MS + 2,4-D + Kin (1 mg/L cada uno) para inducción indirecta (95.2%, 9.8 SE/explante); PEG (10 mg/L) favorece maduración y diferenciación de embriones; aclimatación con 65% supervivencia en invernadero
E08 (16)	Priyadharshini et al.	Inducción en MS + 8.0 mg/L 2,4-D + aditivos (ácido ascórbico, citrato, arginina); encapsulación con 2% alginato de sodio + 100 mM $CaCl_2$; germinación y regeneración en MS + 2.0 mg/L BAP + 0.5 mg/L IAA
E09 (17)	Solangi et al.	MS + 0.5 mg/L 2,4-D + 3.0 mg/L 2iP (inducción de callo 95%); maduración en MS + 0.05 mg/L 2,4-D + 3.0 mg/L 2iP; proliferación y germinación con 0.1 mg/L NAA + 0.1 mg/L Kin; elongación con 0.1 mg/L BA + 0.1 mg/L NAA; aclimatación en turba:arena de río:arena de colina (4:1:1) con 91% supervivencia
E10 (18)	Ali et al.	Inducción en MS + 2,4-D (2.5 mg/L) + KIN (1.5 mg/L) (84% embriogénesis); brotación con IAA + BAP (1.0 + 1.0 mg/L) (78%); elongación con NAA + BAP (3.0 + 3.0 mg/L) (21 cm); enraizamiento con IBA (2.0 mg/L) (84% raíces, 47 raíces/planta); 100% supervivencia en aclimatación

ID / Ref.	Autor	Protocolos
E11 (19)	Manokari et al.	MS + 1.0 mg/L BAP + 1.0 mg/L KN + 2.5 mg/L $AgNO_3$, 92% embriogénesis (30 embriones/explante); encapsulación con 3% alginato + 50 mM $CaCl_2$; almacenamiento a –4 °C (1 año); germinación 95.3% en MS + 0.5 mg/L BAP + 0.25 mg/L KN + 2.5 mg/L $AgNO_3$
E12 (20)	Shashi et al.	Inducción callus: MS + 13.5 µM 2,4-D + 2.22 µM BA (oscuridad, 25°C, 7-12 días). Callus embriogénico: MS + 2.25 µM 2,4-D + 2.22 µM BA (71% embriogénesis). Regeneración: MS + 8.8 µM BA + 0.56 µM 2,4-D (luz 30 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$, 82.7% regeneración, 12 brotes/callus). Brotes múltiples: MS + 13.2 µM BA + 0.56 µM 2,4-D (87.3% inducción, 22.1 brotes/ápice). Enraizamiento: ½MS + 0.4% carbón activado (80% enraizamiento, 7.1 raíces/brote)
E13 (21)	Nabilah et al.	Inducción de callo en medio N6 + 2,4-D (2–3 mg/L); regeneración en N6 + Kinetina (2 mg/L) + NAA (1 mg/L); subcultivo bajo fotoperiodo 16/8 h a 27 °C; RT-PCR y qPCR para análisis génico
E14 (22)	Siddiqui et al.	Inducción callus: MS + 4.52 µM 2,4-D (fotoperíodo 16h, 100 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$, 25°C/20°C). Suspensión: 0.5g callus embriogénico en MS líquido + 4.52 µM 2,4-D. Elicitación: $CaCl_2$ 0-100 mM (T_0-T_5), óptimo 25 mM (T_2). Cultivo 10-30 días. Cuantificación: HPTLC a 300 nm
E15 (23)	Arias-Rodríguez et al.	Inducción de callo a partir de raíces en medio MS con 2,4-D; subcultivos cada 8–15 días a 24 °C, fotoperiodo continuo; obtención de embriones somáticos (globular, corazón, torpedo, dicotiledón) en medio libre de hormonas; extracción de flavonoides por hidrólisis ácida y análisis por TLC y HPLC
E16 (24)	Kiaheirati et al.	Cultivo en medio MS con 3% de sacarosa y 0.8% de agar; 2,4-D + TDZ (para organogénesis), NAA + Kin (para brotes), y 2,4-D + NAA (para SE); incubación a 24 ± 2 °C, 16 h luz/8 h oscuridad; 100% de aclimatización en invernadero
(25)	Heedchim et al.E17	Uso de callo embriogénico derivado de embriones cigóticos cultivados en medio OPCM con 0.1 mg/L dicamba + 0.3 mg/L CPPU; incubación a 26 ± 2 °C, 14 h fotoperiodo; inducción de embriones secundarios en MS + 0.2 M sorbitol; germinación en MS sin reguladores (PGR-free) con 65 % de éxito
E18 (26)	Aurori et al.	Medio MS modificado con vitaminas, peptona y extracto de levadura; tratamientos con auxinas: IAA, IBA, NAA (organogénesis) y 2,4-D, dicamba, picloram (embriogénesis); 30 g/L o 120 g/L de sacarosa; cultivo en oscuridad a 25 °C; picloram 5 mg/L → 100% embriones somáticos maduros

ID / Ref.	Autor	Protocolos
E19 (27)	Huynh et al.	WPM con 2 mg L^{-1} NAA + 0.2 mg L^{-1} BAP, 100 % callogénesis; WPM + 4 mg L^{-1} BAP + 500 mg L^{-1} ME, 83.8 % embriogénesis; WPM + 0.07 mg L^{-1} TDZ → 88.9 % organogénesis; 25 °C, 16 h luz, 30 g L^{-1} sacarosa; confirmación genética con 12 marcadores SCoT
E20 (28)	Umami et al.	Medio MS + 3 mg L^{-1} 2,4-D + 0.5 mg L^{-1} BAP + 2 µM TDZ + 5 µM $CuSO_4$ → 78.6 % callos embriogénicos; regeneración en MS + 2 mg L^{-1} BAP; cultivo a 27 °C, 16 h luz; pH 5.6–5.8; esterilización con NaOCl 2 % y etanol 70 %
E21 (29)	Stefenon, V	Medio MS + vitaminas de Morel + NAA (5–10 µM) + TDZ (5 µM); pH 5.8, 25 ± 1 °C, oscuridad para callogénesis (30 días); luz 16 h fotoperiodo para embriogénesis (60 días); agitación en medio líquido para producción de polifenoles
E22 (30)	López et al.	Inducción callos: MS + 4 mg/L BAP + picloram (2-4 mg/L) + sacarosa 30 g/L + Phytagel 2.5 g/L, pH 5. 7, subcultivos c/15 días. Control oxidación: L-Cisteína 100-200 mg/L,100% reducción oxidación (30 días). Estructuras proembriogénicas: MS + 0.5-1 mg/L BAP + 1.5-2 mg/L picloram + L-Cisteína 25 mg/L. Óptimo: 1 mg/L BAP + 2 mg/L picloram→9 proembriones/g callo
E23 (31)	Wang et al.	Uso de explantes de tallo (0.5–0.8 cm) cultivados en medio MS suplementado con 6-BA (0.5–1.0 mg/L) y NAA (0.5–1.0 mg/L); condiciones óptimas: MS + 0.5 mg/L 6-BA + 1.0 mg/L NAA (74% inducción de callos embriogénicos) y MS + 0.5 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L NAA (79% inducción de embriones somáticos). Subcultivo cada 30–35 días; raíces inducidas con 0.6 mg/L IBA; aclimatación exitosa en suelo 1:1 (tierra+vermiculita).
(47)	Heedchim et al.E24	Cultivo de IZEs en medio MS + 1 mg/L dicamba + 200 mg/L ácido ascórbico, en oscuridad (26 ± 2 °C, 8 sem). Proliferación en medio OPCM (MS/WPM modificado) + 0.1 mg/L dicamba con callo picado 100 veces. Inducción de embriogénesis secundaria (SSE) en MS + 0.2 M sorbitol, germinación en medio sin reguladores.
E25 (32)	Chagas et al.	Cultivo en medio Woody Plant Medium (WPM) con 2,4-D (1–4 mg/L) y BAP (0–1 mg/L); mejores resultados con 1 mg/L 2,4-D solo (inducción de embriones somáticos) y 4 mg/L 2,4-D para callogénesis (hasta 100%). Oscuridad, 26 ± 2 °C, 60 días. Evaluación citohistológica con tinción acetocarmina/Evans blue.
E26 (33)	Ossai et al.	Inducción en medio MS + 9.1 µM 2,4-D + 5.4 µM NAA; regeneración en MS + 4.4 µM BAP + 34 µM uniconazole-P; pruebas con fitoquímicos: fenilacético (PAA, 40.5 µM), glutárico (2.1 µM), hexametilciclotrisiloxano (95.9 µM) y decametiltetrasiloxano (9.6 µM). Mejores resultados con PAA (regeneración hasta 7 plantlets/callo).

ID / Ref.	Autor	Protocolos
E27 (34)	Nekrasova et al.	Explantes foliares esterilizados con 2% de cloruro de benzalconio (5 min). Inducción en medio MS + 0.5 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L kinetina; mantenimiento prolongado en medio LS + 1 mg/L 2,4-D + 0.25 mg/L kinetina + 20 g/L sacarosa; inducción de embrioides en medio con alta concentración de auxinas (IBA 3 mg/L o 2,4-D 1 mg/L), seguidos de cultivo en WPM sin hormonas y luz controlada (23–26 °C, 16 h fotoperiodo).
E28 (35)	Murugan et al.	Etapa del explante: Frutos estadio III (>21-25 mm diámetro); Medio de inducción/maduración (ICM): DKW + kinetina 5.0 mg/L + extracto de malta 1,000 mg/L; Germinación/conversión (GCC): MT + GA_3 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L + espermidina 100 mg/L + agua de coco 10%; Establecimiento: Medio líquido MT libre de reguladores bajo luz; Aclimatización: Turba:vermiculita:perlita (2:1:1)
E29 (36)	Omar et al.	Medio primario: MS + 1.0 mg/L 2,4-D (4 semanas); Medio secundario: MS líquido + 1.0 mg/L 2,4-D + 2.0 mg/L BA (relación auxina:citocinina 1:2) - óptimo para producción de embriones
E30 (37)	Goyal et al.	Callo inducido en medio MS + 3 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L BAP + 30 g/L sacarosa; suspensión celular en medio líquido MS; subcultivo cada 20 días; inducción de embriones somáticos en MS + 1 mg/L 2,4-D + 1 mg/L BAP + caseína, glutamina y prolina; enraizamiento en ½ MS sin auxinas; aclimatización en mezcla de Soilrite:cocopeat (3:1).
E31 (38)	Nzama et al.	Medio base mLV modificado: NH_4^+:NO_3^- = 1:2, 1.5 g/L L-glutamina, 1.8 mg/L 2,4-D, 0.9 mg/L BAP, 0.9 g/L caseína hidrolizada, 40 g/L sacarosa, pH 5.8; incubación a 23 °C en oscuridad por 8–16 semanas. Captura y mantenimiento en medio DCR modificado + 0.25 g/L L-glutamina.
E32 (39)	Ebrahimi et al.	Fase 1: termoterapia TH1 (8 h a 27 °C / 16 h a 38 °C, 18 días); Fase 2: meristemos (0.5–1 mm) cultivados en MS + 0.5 mg/L 2,4-D + 1 mg/L TDZ; Fase 3: multiplicación en biorreactor líquido MS + 1 mg/L BAP + 0.5 mg/L GA_3 + 0.01 mg/L IBA + 3% sacarosa; enraizamiento en ½MS + 1 mg/L IBA + 0.5 mg/L IAA.
E33 (40)	Żabicka et al.	A. Germinación en ½ MS + 2% sacarosa, pH 5.8. B. Inducción en MS + 0.25–0.5 mg/L BAP (citocinina). C. Transferencia a ½ MS + 0.45 mg/L vitamina B1, prolongando el cultivo 2–3 meses sin subcultivo. D. Enraizamiento en ½ MS + 0.45 mg/L B1 o MS + 5 mg/L NAA + 3.76 mg/L B2, con 36.4 % de brotes enraizados. E. Aclimatización ex vitro en perlita estéril.

ID / Ref.	Autor	Protocolos
E34 (41)	Assem et al.	Explantes: inflorescencias inmaduras (1–5 cm). Medio base MS. Inducción de callo en medio M4 (MS + 2.5 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L kinetina + 100 mg/L asparagina + 7 mg/L glicina), 25 °C, oscuridad. Regeneración: medio con 1 mg/L IAA + 1 mg/L kinetina + 0.5 mg/L zeatina + 0.1 mg/L TDZ + 0.25 mg/L ABA, fotoperiodo 16 h. Transformación: biobalística (1100 psi, 9 cm) con vector CRISPR/Cas9-SbCOMT. Selección en Geneticina 10–20 mg/L. Aclimatización a 28 °C, 50 % HR, mezcla turba:arena:suelo (1:1:1).
E35 (42)	Khalifa et al.	Germinación en ½ MS, 25 ± 2 °C. Inducción de callo en MS + 1.0 mg/L 2,4-D + 1.0 mg/L BA, oscuridad 7 sem. ZnONPs añadidos (0–20 mg/L). Actividad enzimática (POD, APX, SOD, CAT), metabolitos secundarios (fenoles, flavonoides, alcaloides, saponinas, terpenoides) y estabilidad genética evaluadas mediante RAPD e ISSR.
E36 (43)	Klimek-Chodacka et al.	Inducción de callo: MS + 3 mg/L BAP + 0.5 mg/L NAA (BN) o MS + 2 mg/L kinetina + 1 mg/L NAA (KN), oscuridad, 26°C, 6 semanas (83-100% eficiencia). Regeneración: Medio libre de hormonas + 1 mg/L glicina, fotoperiodo 16/8h, 6 semanas (76-95% eficiencia, 3-6 plantas/callo).
E37 (44)	Pujari et al.	Semillas: ½MS + zeatin 1 mg/L + sacarosa 2%. Callos: ½MS + 2,4-D 1 mg/L + 6-BAP 0.5 mg/L + zeatin 0.5 mg/L + sacarosa 3%. Regeneración: ½MS + 6-BAP 2 mg/L + zeatin 2 mg/L + sacarosa 5%. Óptimo: L-fenilalanina 1 µM, 12h, medio líquido
E38 (45)	Méndez-Hernández et al.	Inducción de callo y desarrollo embrionario in vitro. - Inmersión de 1 min cada 12 h por 10 semanas. - Medio MS con reguladores de crecimiento (NAA, KIN, BA). - Aclimatización ex vitro en sustrato GS:PM:A (1:1:0.5) con 91 % de supervivencia.
E39 (46)	Carrillo-Bermejo et al.	Plantas in vitro de 9 meses tratadas con 0,54 µM NAA + 2,32 µM KIN por 14 días. - Inducción en medio líquido Yasuda + 5 µM BA, en oscuridad 100 días. - Análisis de proteínas por 2D-SDS-PAGE y LC-MS/MS para identificar proteínas asociadas a la respuesta embriogénica.

Con el propósito de comparar los métodos de propagación vegetal utilizados tradicionalmente con las técnicas biotecnológicas modernas, se identificaron y clasificaron los principales métodos convencionales de propagación reportados en los estudios

revisados. Esta comparación permitió reconocer las diferencias metodológicas, productivas y fisiológicas entre ambos enfoques, así como comprender las razones que han impulsado la creciente adopción de la embriogénesis somática como una alternativa eficiente para la micropropagación de diversas especies vegetales (50).

Tabla 7

Métodos convencionales de propagación

Ref.	Autor	PS	PE	PH	PI	MO	MBA	CM	CC	PC	PB	PES	PT	PCS	DM	GTP	EH
(9)	Di Pauli et al.					X		X									
(10)	Hassan et al.			X		X											
(11)	Zanella et al.	X			X												
(12)	Liu et al.	X			X												
(13)	Shekhawat et al.	X	X														
(14)	Taheri-Dehkordi et al.									X							
(15)	Bhusare et al.	X															
(16)	Priyadharshini et al.										X						
(17)	Solangi et al.	X		X													
(18)	Ali et al.	X	X														
(19)	Manokari et al.	X	X														
(20)	Shashi et al.	X															
(21)	Nabilah et al.	X															
(22)	Siddiqui et al.															X	
(23)	Arias-Rodríguez et al.								X								X
(24)	Kiaheirati et al.														X		
(25)	Heedchim et al.					X											
(26)	Aurori et al.	X															
(27)	Huynh et al.													X			
(28)	Umami et al.		X												X		
(29)	Stefenon, V													X			
(30)	López et al.	X				X											
(31)	Wang et al.	X	X														
(47)	Heedchim et al.	X		X													
(32)	Chagas et al.	X										X					

Ref.	Autor	PS	PE	PH	PI	MO	MBA	CM	CC	PC	PB	PES	PT	PCS	DM	GTP	EH
(33)	Ossai et al.												X				
(34)	Nekrasova et al.	X															
(35)	Murugan et al.	X					X										
(36)	Omar et al.	X					X										
(37)	Goyal et al.	X												X			
(38)	Nzama et al.	X	X														
(39)	Ebrahimi et al.				X												
(40)	Żabicka et al.	X															
(41)	Assem et al.	X															
(42)	Khalifa et al.	X															
(43)	Klimek-Chodacka et al.	X						X									
(44)	Pujari et al.															X	
(45)	Méndez-Hernández et al.	X	X														
(46)	Carrillo-Bermejo et al.		X														

* PS: Propagación por semillas; PE: Propagación por esquejes; PH: Propagación por hijuelos; PI: Propagación por injertos; MO: Micropropagación por organogénesis; MBA: Micropropagación por brotes axilares; CM: Cultivo de meristemos; CC: Cultivo en campo; PC: Propagación por cormos; PB: Propagación por bulbos; PES: Propagación por estacas; PT: Propagación por tubérculos; PCS: Propagación por callo sólido; DM: División de macollos/plantas; GTP: Germinación y trasplante de plántulas; EH: Extracción de hojas.

Tabla 8

Métodos convencionales de propagación

Método de propagación	Frecuencia	%
Propagación por semillas (PS)E01 (9)	24	40.68
Propagación por esquejes (PE)E02 (10)	8	13.56
Propagación por hijuelos (PH)E03 (11)	3	5.08
Propagación por injertos (PI)E04 (12)	3	5.08
Micropropagación por organogénesis (MO)E05 (13)	4	6.78
Micropropagación por brotes axilares (MBA) E06 (14)	2	3.39
Cultivo de meristemos (CM)E07 (15)	2	3.39
Cultivo en campo (CC)E08 (16)	1	1.69
Propagación por cormos (PC)E09 (17)	1	1.69
Propagación por bulbos (PB)E10 (18)	1	1.69
Propagación por estacas (PES)E11 (19)	1	1.69
Propagación por tubérculos (PT)E12 (20)	1	1.69
Propagación por callo sólido (PCS)E13 (21)	3	5.08
División de macollos/plantas (DM)E14 (22)	2	3.39
Germinación y trasplante de plántulas (GTP)E15 (23)	2	3.39
Extracción de hojas (EH)E16 (24)	1	1.69
TotalE17 (25)	59	100.00

Según se observa en la Tabla 7 y Tabla 8, la propagación por semillas constituye el método convencional más empleado, abarcando el 40.7% de los casos identificados en los estudios revisados. Este predominio continúa reflejando la importancia histórica de la reproducción sexual como vía principal para la obtención de plantas en sistemas agrícolas y forestales, gracias a su sencillez, bajo costo y amplia disponibilidad de material vegetativo (51). Sin embargo, sigue siendo relevante destacar que la alta variabilidad genética asociada a este método impulsa la búsqueda de alternativas más uniformes y controladas en muchos cultivos comerciales.

En segundo lugar, la propagación por esquejes alcanza un 13.6%, mostrando su rol como método vegetativo tradicional, fundamental para la obtención de plantas genéticamente idénticas al progenitor. Aunque se utiliza con frecuencia, presenta desafíos como la estacionalidad, la calidad del material y la susceptibilidad a patógenos.

Otros métodos, como la micropropagación por organogénesis (6.8%), hijuelos (5.1%), injertos (5.1%) y callo sólido (5.1%), revelan frecuencias similares y aplicaciones más específicas, generalmente destinadas a especies concretas o a sistemas de producción con requerimientos particulares de control sobre el material vegetal (52). Técnicas como la micropropagación por brotes axilares, el cultivo de meristemos y la división de macollos (3.4% cada uno) demuestran la presencia de alternativas vegetativas menos frecuentes.

Finalmente, métodos como la propagación por cormos, bulbos, estacas, tubérculos, el cultivo en campo y la extracción de hojas aparecen con frecuencias del 1.7%, lo que refleja su uso limitado, restringido a grupos específicos de plantas o a circunstancias en las que otros procedimientos no resultan viables (53).

Tabla 9

Diferencias reportadas entre métodos convencionales y ES

ID / Ref.	Autor	Técnicas – metodológicas	Productivas – aplicadas	Fisiológicas – bioquímicas	Genéticas
E01 (9)	Di Pauli et al.				X
E02 (10)	Hassan et al.	X			X
E03 (11)	Zanella et al.	X		X	
E04 (12)	Liu et al.			X	
E05 (13)	Shekhawat et al.	X			X
E06 (14)	Taheri-Dehkordi et al.	X			
E07 (15)	Bhusare et al.				X
E08 (16)	Priyadharshini et al.	X	X		
E09 (17)	Solangi et al.	X	X		

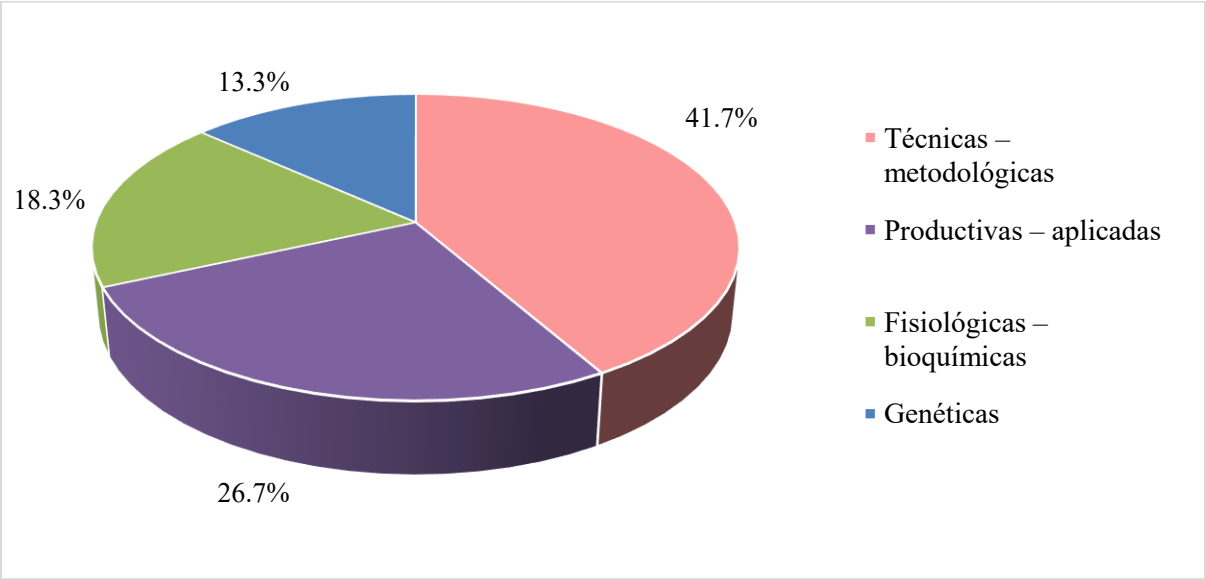
ID / Ref.	Autor	Técnicas – metodológicas	Productivas – aplicadas	Fisiológicas – bioquímicas	Genéticas
E10 (18)	Ali et al.	X		X	X
E11 (19)	Manokari et al.	X		X	
E12 (20)	Shashi et al.	X		X	
E13 (21)	Nabilah et al.	X			
E14 (22)	Siddiqui et al.		X		
E15 (23)	Arias-Rodríguez et al.	X	X		
E16 (24)	Kiaheirati et al.	X	X		
E17 (25)	Heedchim et al.	X	X		
E18 (26)	Aurori et al.			X	
E19 (27)	Huynh et al.	X			
E20 (28)	Umami et al.		X	X	
E21 (29)	Stefenon, V			X	
E22 (30)	López et al.	X	X		
E23 (31)	Wang et al.		X		
E24 (47)	Heedchim et al.	X	X		

ID / Ref.	Autor	Técnicas – metodológicas	Productivas – aplicadas	Fisiológicas – bioquímicas	Genéticas
E25 (32)	Chagas et al.	X	X		
E26 (33)	Ossai et al.			X	
E27 (34)	Nekrasova et al.	X	X		
E28 (35)	Murugan et al.	X	X		
E29 (36)	Omar et al.	X			
E30 (37)	Goyal et al.	X			
E31 (38)	Nzama et al.			X	
E32 (39)	Ebrahimi et al.	X			
E33 (40)	Żabicka et al.				X
E34 (41)	Assem et al.	X			X
E35 (42)	Khalifa et al.	X		X	X
E36 (43)	Klimek-Chodacka et al.		X		
E37 (44)	Pujari et al.		X		
E38 (45)	Méndez-Hernández et al.		X		
E39 (46)	Carrillo-Bermejo et al.	X			

Fuente: Elaboración propia

Figura 8

Diferencia reportadas entre métodos convencionales y ES



Según se aprecia en la Figura 8, las diferencias identificadas entre los métodos convencionales de propagación vegetal y la embriogénesis somática (ES) se concentran principalmente en aspectos técnico–metodológicos, que representan el 41.7% del total. Estas diferencias se relacionan con la naturaleza misma de ambos enfoques: mientras los métodos tradicionales dependen de procesos biológicos naturales y, en muchos casos, presentan baja reproducibilidad, la embriogénesis somática permite un control mucho más preciso de las etapas de inducción, proliferación y regeneración in vitro, lo que aumenta significativamente la eficiencia del proceso .(54)

En segundo lugar, se encuentran las diferencias productivas–aplicadas, con un 26.7%, que reflejan la ventaja de la ES para producir plantas de manera masiva y clonalmente homogénea y en periodos más cortos, superando las limitaciones de disponibilidad de material vegetativo, estacionalidad o problemas sanitarios propios de la propagación tradicional. Asimismo, las diferencias fisiológicas–bioquímicas, que alcanzan el 18.3%, ponen de manifiesto la capacidad de la ES para modular respuestas celulares y hormonales, optimizando la formación de tejidos embriogénicos y permitiendo la regeneración en condiciones altamente controladas .(55)

Además, las diferencias genéticas, con un 13.3%, evidencian que la ES puede favorecer una mayor fidelidad genética cuando se aplican protocolos adecuados, o bien generar variación somaclonal útil para programas de mejoramiento, mientras que la reproducción sexual tradicional introduce variabilidad que no siempre es deseable en cultivos comerciales.

De este modo, estos resultados destacan que la embriogénesis somática ofrece ventajas significativas frente a los métodos convencionales, al permitir un control más riguroso del proceso regenerativo, mejorar la calidad y uniformidad del material vegetal obtenido y aumentar la eficiencia productiva, lo que la posiciona como una herramienta clave dentro de las biotecnologías modernas aplicadas a la propagación y mejoramiento de plantas (56).

Finalmente, en el componente **Contexto (C)** se identificaron los principales avances, desafíos, limitaciones y áreas de aplicación de la embriogénesis somática descritos en los estudios analizados. Este análisis permitió comprender no solo el estado actual de la técnica, sino también su evolución reciente y las oportunidades que ofrece para distintos sectores productivos. Los avances evidencian mejoras significativas en la optimización de protocolos, el entendimiento de los mecanismos genéticos y fisiológicos involucrados y la incorporación de tecnologías emergentes. A su vez, los desafíos y limitaciones ponen de manifiesto la necesidad de estandarizar condiciones, superar la recalcitrancia de algunas especies y fortalecer la reproducibilidad de los resultados. De igual manera, las aplicaciones identificadas muestran el amplio potencial de la embriogénesis somática en ámbitos como la propagación masiva, la conservación biotecnológica, el mejoramiento genético y la producción de compuestos de interés industrial y farmacéutico (57).

Para el análisis de los avances, desafíos, limitaciones y aplicaciones de la embriogénesis somática se empleó una codificación de respuesta múltiple, debido a que un mismo estudio podía reportar más de una categoría simultáneamente. En consecuencia, los porcentajes presentados en las Figuras 9, 10, 11 y 12 fueron calculados considerando como denominador el total de menciones o aportes codificados en cada dimensión y no el número total de estudios incluidos en la revisión (n = 39). Por esta razón, cada artículo pudo contribuir a una o más categorías de análisis.

Tabla 10

Avances de la investigación en ES

ID / Ref.	Autor	AGM	EP	IT	LEE	OP
E01 (9)	Di Pauli et al.					X
E02 (10)	Hassan et al.					X
E03 (11)	Zanella et al.	X				

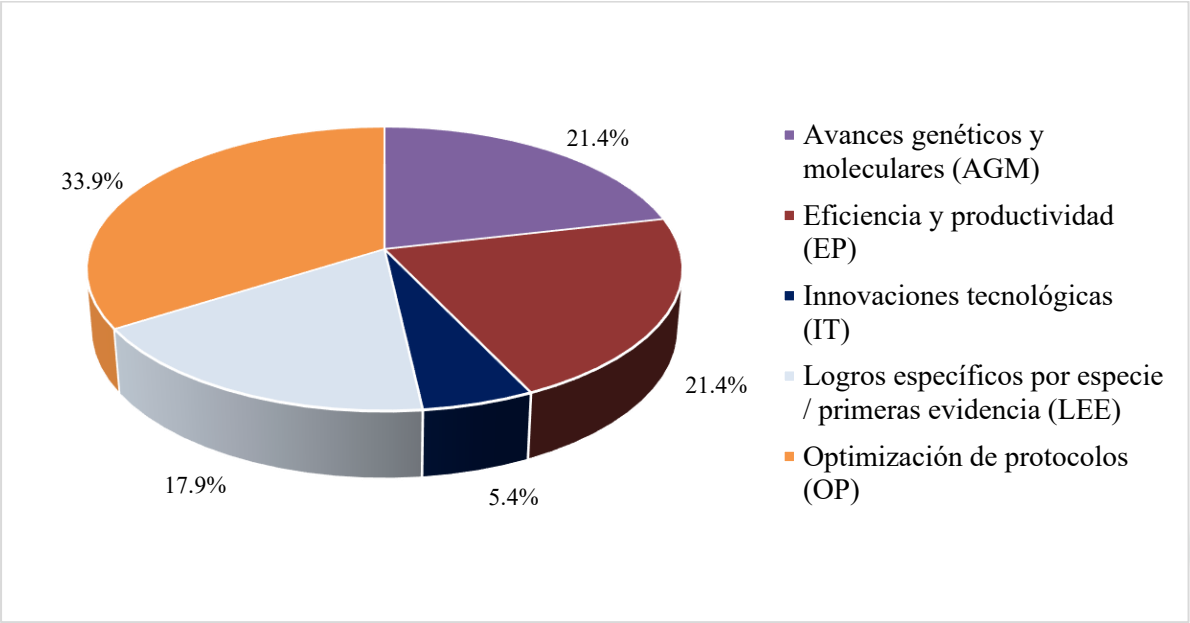
ID / Ref.	Autor	AGM	EP	IT	LEE	OP
E04 (12)	Liu et al.		X			
E05 (13)	Shekhawat et al.		X		X	
E06 (14)	Taheri-Dehkordi et al.					X
E07 (15)	Bhusare et al.	X			X	
E08 (16)	Priyadharshini et al.		X		X	
E09 (17)	Solangi et al.		X			X
E10 (18)	Ali et al.		X			X
E11 (19)	Manokari et al.					X
E12 (20)	Shashi et al.					X
E13 (21)	Nabilah et al.	X				
E14 (22)	Siddiqui et al.		X			
E15 (23)	Arias-Rodríguez et al.	X				
E16 (24)	Kiaheirati et al.				X	
E17 (25)	Heedchim et al.	X			X	
E18 (26)	Aurori et al.		X		X	
E19 (27)	Huynh et al.		X		X	
E20 (28)	Umami et al.	X			X	
E21 (29)	Stefenon, V	X	X		X	
E22 (30)	López et al.	X			X	
E23 (31)	Wang et al.					X
E24 (47)	Heedchim et al.					X
E25 (32)	Chagas et al.					X
E26 (33)	Ossai et al.	X				X
E27 (34)	Nekrasova et al.					X

ID / Ref.	Autor	AGM	EP	IT	LEE	OP
E28 (35)	Murugan et al.		X			X
E29 (36)	Omar et al.					X
E30 (37)	Goyal et al.					X
E31 (38)	Nzama et al.		X			X
E32 (39)	Ebrahimi et al.			X		
E33 (40)	Żabicka et al.		X			X
E34 (41)	Assem et al.	X				
E35 (42)	Khalifa et al.	X				
E36 (43)	Klimek-Chodacka et al.					X
E37 (44)	Pujari et al.			X		X
E38 (45)	Méndez-Hernández et al.			X		
E39 (46)	Carrillo-Bermejo et al.	X				

* AGM: Avances genéticos y moleculares; EP: Eficiencia y productividad; IT: Innovaciones tecnológicas; LEE: Logros específicos por especie/primeras evidencias; OP: Optimización de protocolos.

Figura 9

Avances de la investigación en ES



Según se muestra en la Tabla 10 y Figura 9, el avance más representativo en la investigación sobre embriogénesis somática corresponde a la optimización de protocolos, con un 33.9% del total de aportes. Este predominio refleja el interés prioritario por perfeccionar las condiciones de cultivo, los balances hormonales, las formulaciones de medios y los parámetros ambientales necesarios para mejorar la inducción, maduración y conversión de los embriones somáticos (58). La optimización constituye, por tanto, el eje central que permite estandarizar procedimientos y asegurar la reproducibilidad en diferentes especies vegetales.

En segundo lugar, se encuentran los avances genéticos y moleculares, que representan el 21.4%. Esta categoría agrupa estudios centrados en comprender los mecanismos celulares y regulatorios que sustentan la embriogénesis, incluyendo la identificación de genes marcadores, rutas de señalización y respuestas epigenéticas involucradas en la adquisición de competencia embriogénica. Estos aportes han contribuido a profundizar la comprensión teórica del proceso y a orientar el diseño de estrategias más precisas para su manipulación (59).

Con el mismo porcentaje, los avances en eficiencia y productividad, también con un 21.4%, ponen de manifiesto mejoras en la capacidad de generar embriones somáticos y plantas completas con mayores tasas de conversión, mejores niveles de sincronía y una menor frecuencia de anormalidades. Este tipo de progresos es crucial para favorecer la

implementación de sistemas productivos más sólidos y con potencial de escalamiento comercial.

En cuarto lugar, los logros específicos por especie y primeras evidencias de embriogénesis somática representan el 17.9%. Esta proporción recoge investigaciones que reportan la inducción embrionaria en especies poco estudiadas o consideradas recalcitrantes, así como aquellas que describen por primera vez la ocurrencia de la embriogénesis somática en determinadas plantas. Aunque su peso es menor, estos aportes amplían de manera significativa el alcance de la técnica y permiten incorporar un número creciente de especies al campo de estudio.

Finalmente, las innovaciones tecnológicas, con un 5.4%, agrupan avances relacionados con la implementación de nuevas herramientas y sistemas de cultivo, tales como biorreactores, sistemas de inmersión temporal o tecnologías de automatización. Aunque su representación es la más reducida, estos desarrollos ofrecen rutas prometedoras para la producción masiva y la mejora de la eficiencia operativa en procesos a mayor escala (60).

Tabla 11

Desafíos de la investigación en ES

ID / Ref.	Autor	ER	EER	GM	HF	PE	TCI
E01 (9)	Di Pauli et al.			X	X		
E02 (10)	Hassan et al.				X		
E03 (11)	Zanella et al.		X		X		
E04 (12)	Liu et al.						X
E05 (13)	Shekhawat et al.			X			X
E06 (14)	Taheri-Dehkordi et al.						X
E07 (15)	Bhusare et al.						X
E08 (16)	Priyadharshini et al.				X		
E09 (17)	Solangi et al.		X		X		
E10 (18)	Ali et al.				X		
E11 (19)	Manokari et al.				X		

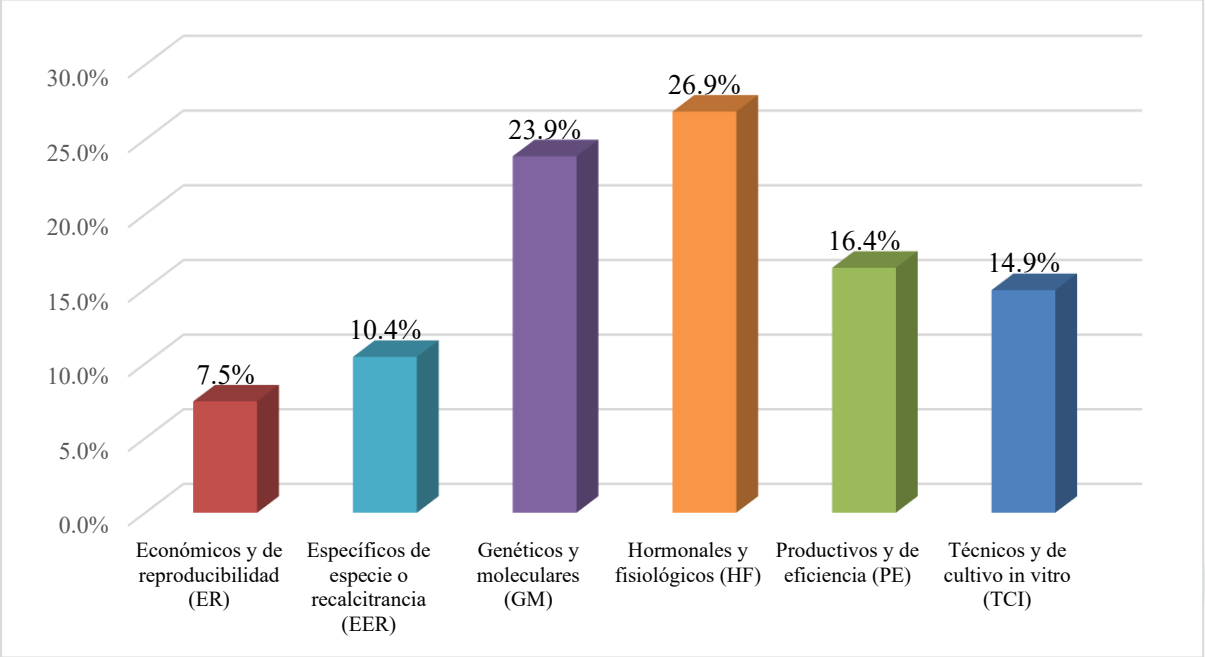
ID / Ref.	Autor	ER	EER	GM	HF	PE	TCI
E12 (20)	Shashi et al.			X		X	
E13 (21)	Nabilah et al.			X			
E14 (22)	Siddiqui et al.	X					
E15 (23)	Arias-Rodríguez et al.		X				X
E16 (24)	Kiaheirati et al.				X		
E17 (25)	Heedchim et al.				X		
E18 (26)	Aurori et al.			X	X		
E19 (27)	Huynh et al.				X	X	
E20 (28)	Umami et al.				X	X	
E21 (29)	Stefenon, V				X		X
E22 (30)	López et al.		X				X
E23 (31)	Wang et al.			X		X	
E24 (47)	Heedchim et al.					X	
E25 (32)	Chagas et al.			X		X	
E26 (33)	Ossai et al.	X			X		X
E27 (34)	Nekrasova et al.	X		X			X
E28 (35)	Murugan et al.			X	X	X	
E29 (36)	Omar et al.		X		X	X	
E30 (37)	Goyal et al.			X	X		
E31 (38)	Nzama et al.		X	X			
E32 (39)	Ebrahimi et al.		X	X			
E33 (40)	Żabicka et al.			X			
E34 (41)	Assem et al.	X			X		X
E35 (42)	Khalifa et al.			X			

ID / Ref.	Autor	ER	EER	GM	HF	PE	TCI
E36 (43)	Klimek-Chodacka et al.			X			
E37 (44)	Pujari et al.					X	
E38 (45)	Méndez-Hernández et al.	X				X	
E39 (46)	Carrillo-Bermejo et al.			X		X	

* ER: Económicos y de reproducibilidad; EER: Específicos de especie o recalcitrancia; GM: Genéticos y moleculares; HF: Hormonales y fisiológicos; PE: Productivos y de eficiencia; TCI: Técnicos y de cultivo in vitro

Figura 10

Desafíos de la investigación en ES



Según se muestra en la Figura 10, los principales desafíos en la investigación sobre embriogénesis somática (ES) se concentran en los aspectos hormonales y fisiológicos, que alcanzan el 26.9%. Este predominio indica que una de las mayores limitaciones actuales reside en comprender y regular de manera adecuada los factores hormonales y las condiciones fisiológicas que determinan la inducción, el desarrollo y la conversión de los embriones somáticos. La dificultad para establecer balances óptimos entre reguladores del crecimiento continúa siendo un punto crítico para la estandarización de protocolos eficientes en diferentes especies vegetales .(61)

En segundo lugar, los desafíos genéticos y moleculares representan el 23.9%. Este grupo evidencia la necesidad de profundizar en el estudio de los mecanismos regulatorios que controlan la competencia embriogénica, particularmente la expresión génica, los cambios epigenéticos y la identificación de marcadores asociados al desarrollo somático. A pesar de los avances recientes, estos aspectos siguen mostrando vacíos que limitan la comprensión integral del proceso.

Los desafíos productivos y de eficiencia constituyen el 16.4% del total. Su importancia radica en optimizar las tasas de inducción, proliferación, maduración y conversión de embriones somáticos, así como en garantizar la regeneración completa de plantas. Mejorar la sincronía del desarrollo y reducir la variabilidad experimental continúa siendo fundamental para lograr sistemas más estables y potencialmente escalables .(62)

En un nivel intermedio se ubican los desafíos técnicos del cultivo in vitro, con un 14.9%, que incluyen dificultades asociadas al manejo de medios de cultivo, la contaminación, el control de las condiciones ambientales y la estandarización de procedimientos. Estos factores influyen directamente en la reproducibilidad y éxito de los protocolos.

Los desafíos específicos de especie o recalcitrancia alcanzan el 10.4% y reflejan que muchas especies vegetales responden de manera limitada o inconsistente a los protocolos convencionales. La variabilidad entre genotipos obliga a adaptar y ajustar las metodologías según las características fisiológicas particulares de cada especie, lo que representa un reto para generalizar procedimientos aplicables a un amplio rango de plantas .(63)

Finalmente, los desafíos económicos y de reproducibilidad representan el 7.5%. Aunque constituyen la menor proporción, siguen afectando la implementación práctica de la embriogénesis somática, especialmente en contextos con recursos tecnológicos y financieros limitados. La disponibilidad de insumos especializados y la dificultad para replicar resultados entre laboratorios continúan condicionando la aplicabilidad de esta técnica.

Tabla 12

Limitaciones de la investigación en ES

ID / Ref.	Autor	TCIV	PE	HF	GM	EER	ER
E01 (9)	Di Pauli et al.					X	X
E02 (10)	Hassan et al.			X		X	
E03 (11)	Zanella et al.		X				
E04 (12)	Liu et al.			X	X		
E05 (13)	Shekhawat et al.	X					
E06 (14)	Taheri-Dehkordi et al.	X			X		
E07 (15)	Bhusare et al.		X				
E08 (16)	Priyadharshini et al.	X					
E09 (17)	Solangi et al.		X		X		
E10 (18)	Ali et al.	X	X				

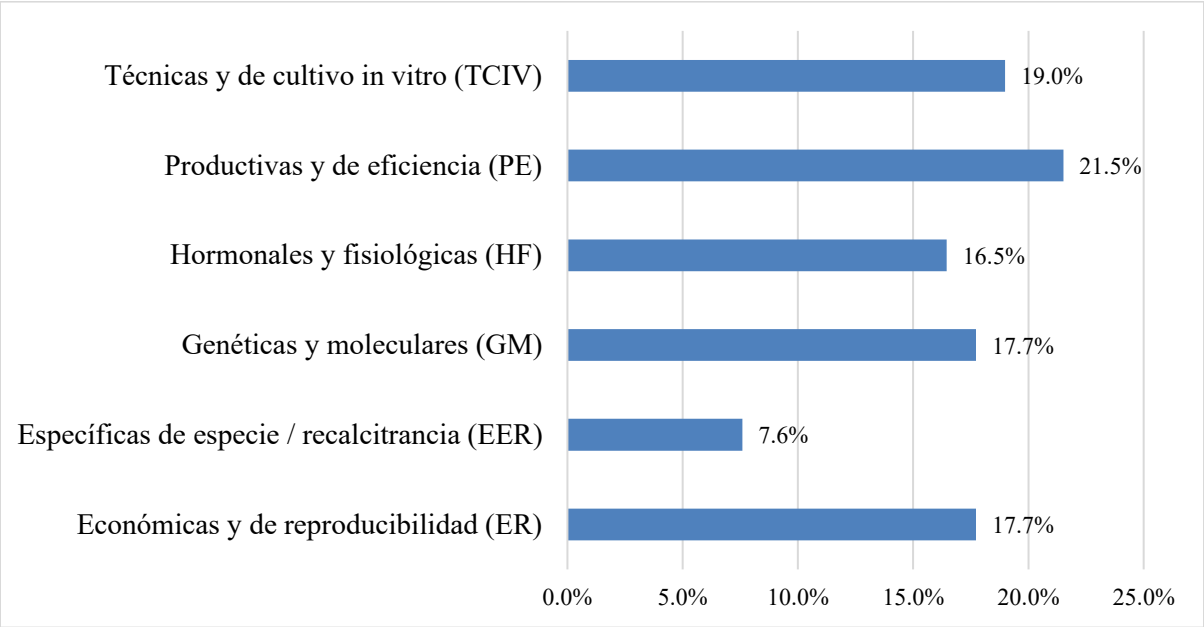
ID / Ref.	Autor	TCIV	PE	HF	GM	EER	ER
E11 (19)	Manokari et al.			X			X
E12 (20)	Shashi et al.				X		X
E13 (21)	Nabilah et al.				X		
E14 (22)	Siddiqui et al.		X	X			X
E15 (23)	Arias-Rodríguez et al.		X	X			X
E16 (24)	Kiaheirati et al.	X					X
E17 (25)	Heedchim et al.		X			X	
E18 (26)	Aurori et al.	X		X			
E19 (27)	Huynh et al.			X			X
E20 (28)	Umami et al.			X			X
E21 (29)	Stefenon, V		X		X		
E22 (30)	López et al.		X				
E23 (31)	Wang et al.	X	X	X			
E24 (47)	Heedchim et al.	X	X	X			
E25 (32)	Chagas et al.	X	X	X			
E26 (33)	Ossai et al.	X	X		X		
E27 (34)	Nekrasova et al.	X	X				
E28 (35)	Murugan et al.	X	X		X		
E29 (36)	Omar et al.	X		X			
E30 (37)	Goyal et al.	X			X		
E31 (38)	Nzama et al.				X	X	
E32 (39)	Ebrahimi et al.	X					X
E33 (40)	Żabicka et al.				X		X
E34 (41)	Assem et al.				X	X	

ID / Ref.	Autor	TCIV	PE	HF	GM	EER	ER
E35 (42)	Khalifa et al.				X		
E36 (43)	Klimek-Chodacka et al.		X				X
E37 (44)	Pujari et al.		X				X
E38 (45)	Méndez-Hernández et al.					X	X
E39 (46)	Carrillo-Bermejo et al.			X	X		X

* TCIV: Técnicas y de cultivo in vitro; PE: Productivas y de eficiencia; HF: Hormonales y fisiológicos; GM: Genéticas y moleculares; EER: Específicas de especie / recalcitrancia; ER: Económicas y de reproducibilidad.

Figura 11

Limitaciones de la investigación en ES



La Figura 11 sintetiza de manera visual los principales obstáculos que aún persisten en la investigación sobre la embriogénesis somática (ES), reflejando una serie de limitaciones que abarcan dimensiones técnicas, fisiológicas, genéticas, económicas y específicas de cada especie. En primer lugar, las limitaciones productivas y de eficiencia (21.5%) constituyen la categoría más representativa. Este hallazgo evidencia que uno de los retos más frecuentes en la ES lograr una tasa de inducción, proliferación y conversión de embriones somáticos que sea estable, reproducible y suficientemente elevada para aplicaciones comerciales o programas de mejoramiento. Muchos estudios reportan dificultades relacionadas con la baja frecuencia de formación de embriones, la aparición de embriones anormales, la falta de sincronía en los estadios de desarrollo y la conversión limitada a plántulas viables, lo cual afecta directamente la escalabilidad de la técnica (64).

En estrecha relación, las limitaciones técnicas y de cultivo in vitro representan el 19.0%. Esta categoría pone de manifiesto que la embriogénesis somática sigue siendo un proceso altamente sensible a las condiciones del cultivo: composición del medio, tipo y concentración de reguladores de crecimiento, fuente de carbono, fotoperiodo, temperatura, tipo de explante y estado fisiológico del tejido. La interacción entre estos factores puede generar respuestas contradictorias o difíciles de reproducir, lo que hace evidente la necesidad de protocolos más estandarizados que reduzcan la dependencia del ensayo y error.

Por otro lado, las limitaciones genéticas y moleculares (17.7%) subrayan la falta de

comprensión completa sobre los mecanismos que regulan la competencia embriogénica y el desarrollo somático. A pesar de los avances recientes, aún existe poca claridad respecto a los genes clave, vías de señalización, factores epigenéticos y marcadores moleculares que determinan la transición de un tejido somático hacia un embrión somático (65). Esta falta de conocimiento limita la posibilidad de intervenir de manera más precisa para mejorar la eficiencia del proceso o resolver comportamientos recalcitrantes. Las limitaciones hormonales y fisiológicas (16.5%) también representan un aspecto crítico, dado que la inducción y maduración de embriones somáticos dependen estrictamente del balance hormonal, la disponibilidad de nutrientes, el estrés inducido y el estado metabólico del explante.

Asimismo, las limitaciones económicas y de reproducibilidad (17.7%) reflejan dos problemáticas relevantes: por un lado, los costos asociados al cultivo in vitro, uso de reguladores de crecimiento, mantenimiento de cámaras climáticas y posibles necesidades de biorreactores; y por otro, la dificultad para replicar los resultados de un laboratorio a otro, lo cual dificulta la adopción práctica de la técnica en contextos productivos o comerciales.

Finalmente, las limitaciones específicas de especie o recalcitrancia (7.6%) evidencian que la embriogénesis somática no es un proceso universalmente aplicable. Algunas especies, o incluso determinados genotipos dentro de una misma especie, presentan baja capacidad embriogénica, formación excesiva de callo no embriogénico o ausencia total de respuesta, lo que limita significativamente la generalización de los protocolos. Este factor constituye uno de los mayores retos para ampliar el uso de la ES en programas de conservación, propagación masiva o mejoramiento genético (66).

Tabla 13

Aplicaciones de la Embriogénesis Somática

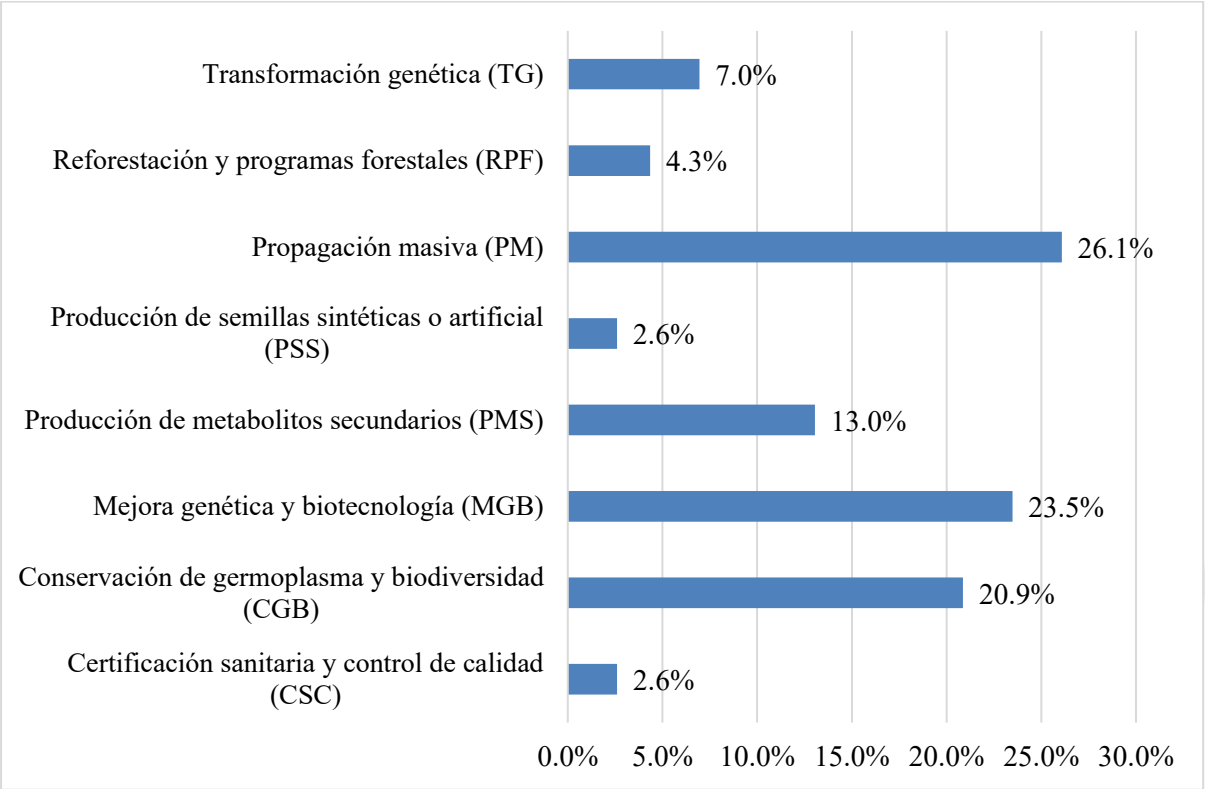
Ref.	Autor	TG	RPF	PM	PSS	PMS	MGB	CGB	CSC
(9)	Di Pauli et al.						X		
(10)	Hassan et al.	X		X				X	
(11)	Zanella et al.		X	X			X	X	
(12)	Liu et al.	X		X					
(13)	Shekhawat et al.	X	X	X					
(14)	Taheri-Dehkordi et al.		X	X			X	X	
(15)	Bhusare et al.	X		X		X		X	
(16)	Priyadharshini et al.	X		X	X	X		X	

Ref.	Autor	TG	RPF	PM	PSS	PMS	MGB	CGB	CSC
(17)	Solangi et al.			X			X	X	
(18)	Ali et al.			X		X	X	X	
(19)	Manokari et al.		X	X			X	X	
(20)	Shashi et al.		X	X		X	X		
(21)	Nabilah et al.	X					X		
(22)	Siddiqui et al.					X	X		
(23)	Arias-Rodríguez et al.					X			
(24)	Kiaheirati et al.			X			X	X	X
(25)	Heedchim et al.			X			X	X	
(26)	Aurori et al.	X		X			X		
(27)	Huynh et al.					X	X	X	
(28)	Umami et al.	X		X			X		
(29)	Stefenon, V			X		X		X	
(30)	López et al.			X		X	X	X	
(31)	Wang et al.			X			X		
(47)	Heedchim et al.			X				X	
(32)	Chagas et al.			X		X	X	X	
(33)	Ossai et al.			X			X		
(34)	Nekrasova et al.					X	X	X	
(35)	Murugan et al.			X			X	X	X
(36)	Omar et al.			X	X	X	X	X	
(37)	Goyal et al.			X			X		
(38)	Nzama et al.			X	X		X	X	
(39)	Ebrahimi et al.			X			X	X	X
(40)	Żabicka et al.							X	
(41)	Assem et al.			X			X		
(42)	Khalifa et al.					X			
(43)	Klimek-Chodacka et al.					X		X	
(44)	Pujari et al.			X		X		X	
(45)	Méndez-Hernández et al.			X			X	X	
(46)	Carrillo-Bermejo et al.			X			X		

* TG: Transformación genética; RPF: Reforestación y programas forestales; PM: Propagación masiva; PSS: Producción de semillas sintéticas o artificial; PMS: Producción de metabolitos secundarios; MGB: Mejora genética y biotecnología; CGB: Conservación de germoplasma y biodiversidad; CSC: Certificación sanitaria y control de calidad

Figura 12

Aplicaciones de la Embriogénesis Somática



La Figura 12 presenta la distribución de las principales aplicaciones de la embriogénesis somática (ES) reportadas en los estudios recientes, evidenciando el amplio alcance biotecnológico de esta técnica en distintos sectores productivos, ambientales y científicos. La categoría más destacada corresponde a la propagación masiva (26.1%), lo que confirma que la ES continúa siendo una herramienta clave para la multiplicación rápida, uniforme y eficiente de plantas a gran escala. Esta aplicación es especialmente relevante en cultivos comerciales donde la demanda supera la capacidad de producción mediante métodos convencionales, o en especies cuya reproducción sexual presenta baja germinación, alto grado de variabilidad genética o dependencia de condiciones ambientales específicas. La capacidad de obtener grandes cantidades de plantas clonalmente homogéneas, cuya estabilidad genética debe comprobarse cuando el protocolo lo requiera a partir de un solo explante sitúa a la ES como un recurso estratégico en viveros, programas de agricultura intensiva, producción industrial de plantas y establecimiento de líneas élite con alto valor agronómico .(67)

En segundo lugar, se encuentran la mejora genética y biotecnología (23.5%) y la conservación de germoplasma y biodiversidad (20.9%). La importancia de la ES en el mejoramiento genético radica en su rol como plataforma para la regeneración de plantas

transformadas mediante técnicas como CRISPR/Cas9, biobalística o transformación mediada por Agrobacterium. Además, la ES permite recuperar plantas true-to-type después de la manipulación genética, incrementando así la eficiencia de los programas de ingeniería de cultivos. En términos de conservación, la ES se establece como un mecanismo crucial para preservar genotipos valiosos, especies amenazadas o de distribución restringida, al permitir la obtención de bancos de germoplasma, embriones criopreservados y material vegetal libre de patógenos. Esta utilidad es particularmente relevante en un escenario global marcado por el cambio climático, la pérdida de hábitats y la erosión genética.

Otra aplicación importante es la producción de metabolitos secundarios (13.0%), resultado de la capacidad de los cultivos embriogénicos para biosintetizar compuestos bioactivos bajo condiciones controladas. Esta línea de aplicación es estratégica para las industrias farmacéutica, cosmética y nutracéutica, dado que permite generar moléculas de interés comercial sin depender de la disponibilidad estacional, la variabilidad natural o la sobreexplotación de recursos silvestres. En este contexto, la ES se complementa con estrategias como el uso de elicitores, cultivos en suspensión y biorreactores, que potencian la producción de metabolitos de alto valor (68).

Por otro lado, la transformación genética (7.0%) y la reforestación y programas forestales (4.3%) aparecen como aplicaciones emergentes, pero altamente relevantes. La transformación genética apoyada en ES constituye un eje central en el desarrollo de cultivos resistentes a enfermedades, estrés hídrico, salinidad o plagas, mientras que su uso en especies forestales permite acelerar programas de restauración ambiental y reforestación con material de calidad superior. En especies maderables de lento crecimiento o difícil reproducción, la ES representa una alternativa indispensable para asegurar el establecimiento de plantaciones homogéneas y genéticamente mejoradas .(69)

Finalmente, la producción de semillas sintéticas y la certificación sanitaria y control de calidad (ambas con 2.6%) constituyen aplicaciones especializadas, pero de gran potencial. Las semillas sintéticas permiten el almacenamiento, transporte y uso de embriones somáticos encapsulados como si fueran semillas reales, facilitando la propagación en viveros y el intercambio de germoplasma entre regiones (70). Por su parte, la certificación sanitaria destaca el valor de la ES en la obtención de plantas libres de virus, patógenos o contaminantes, asegurando la calidad del material vegetativo para agricultura comercial y exportación.

3.3. Principales hallazgos obtenidos

Como segundo aspecto de los resultados, se procede a presentar una síntesis de los principales hallazgos obtenidos, con el propósito de dar respuesta tanto a la pregunta general como a las preguntas específicas de investigación previamente formuladas.

PG: ¿Cuál es el estado actual de las investigaciones sobre la embriogénesis somática como proceso biotecnológico para la micropropagación clonal de plantas?

El estado actual de las investigaciones sobre la embriogénesis somática como proceso biotecnológico para la micropropagación clonal de plantas evidencia un campo ampliamente consolidado, en constante crecimiento y con avances metodológicos significativos. Los estudios recientes muestran que esta técnica se aplica principalmente en plantas de alto interés económico, agrícola, medicinal y ambiental, destacándose el predominio de especies alimenticias y el uso de la embriogénesis somática para la propagación masiva, la optimización de protocolos, la producción de compuestos bioactivos, el mejoramiento genético y la conservación biotecnológica.

En el ámbito técnico, se confirma que la embriogénesis somática indirecta constituye la metodología más empleada debido a su capacidad para generar tejido embriogénico estable y reproducible, mientras que las estrategias directas, combinadas o basadas en inducción de callo se ajustan a especies con comportamientos específicos. Los protocolos descritos muestran una notable diversidad en el uso de reguladores de crecimiento, medios de cultivo y condiciones ambientales, así como la incorporación de tecnologías avanzadas como biorreactores, encapsulación, marcadores moleculares y edición génica. Estas características diferencian a la embriogénesis somática de los métodos convencionales al ofrecer un mayor control técnico, mayor eficiencia productiva, uniformidad genética y la posibilidad de superar limitaciones de estacionalidad o escasez de material vegetativo.

Asimismo, el análisis del campo revela avances sólidos en la optimización de protocolos, la comprensión genética y fisiológica del proceso embriogénico y el desarrollo de tecnologías emergentes que permiten la producción masiva y automatizada de embriones somáticos. Sin embargo, persisten desafíos importantes relacionados con la eficiencia del proceso, la variabilidad entre especies, la regulación hormonal, las limitaciones técnicas y económicas, y la necesidad de mejorar la reproducibilidad interlaboratorio. A pesar de ello, las aplicaciones actuales muestran un potencial biotecnológico amplio que abarca desde la agricultura intensiva y el manejo forestal hasta la industria farmacéutica y la conservación

de la biodiversidad.

PE1: ¿Qué plantas se investigan y con qué propósito biotecnológico se aplica la micropropagación in vitro?

Los resultados obtenidos muestran que la micropropagación in vitro mediante embriogénesis somática se aplica principalmente a plantas de alto interés económico, agrícola, medicinal y biotecnológico, observándose una clara predominancia de especies alimenticias, que representan el 41.0% del total de plantas estudiadas. Este grupo incluye cultivos estratégicos como caña de azúcar, palma datilera, arroz, girasol, café, almendro y diversos frutales, lo que evidencia que la biotecnología vegetal prioriza la propagación clonal de especies esenciales para la seguridad alimentaria y la producción agrícola intensiva.

En segundo lugar, las especies ornamentales y medicinales alcanzan cada una un 15.4%, destacando plantas de gran valor comercial como peonía, orquídeas y dedalera, así como especies farmacéuticamente relevantes como *Bacopa monnieri, Catharanthus roseus y Paramignya trimera*. La presencia de estos grupos revela el interés por optimizar la producción de plantas ornamentales de alto valor estético y, a la vez, mejorar la síntesis de metabolitos con aplicaciones terapéuticas.

Las especies forrajeras representan el 10.3%, incluyendo pastos como Pennisetum pedicellatum, Pennisetum purpureum y Cenchrus ciliaris, lo que destaca la importancia de la micropropagación para incrementar la disponibilidad de biomasa y mejorar cultivos destinados a la ganadería. Asimismo, las especies maderables y silvestres presentan frecuencias menores (7.7% cada una), pero reflejan aplicaciones orientadas a la reforestación, la conservación ecológica y la recuperación de especies nativas. Asimismo, las especies aromáticas aparecen en menor proporción (2.6%), asociadas principalmente a la producción de aceites esenciales.

En cuanto al propósito biotecnológico, los estudios incluidos muestran que la aplicación predominante es la optimización de protocolos (25.6%), reflejando la necesidad de mejorar las condiciones experimentales para inducir y regenerar embriones somáticos de manera eficiente. A esto le siguen la propagación y producción masiva y la producción de compuestos medicinales, cada una con 23.1%, lo que indica que la embriogénesis somática se utiliza tanto para generar grandes cantidades de plantas clonalmente homogéneas como para incrementar la producción controlada de metabolitos de alto valor farmacéutico. El

mejoramiento genético ocupa el 12.8%, destacando el uso de esta técnica como soporte para la introducción de variaciones controladas, la regeneración de plantas transformadas y la aplicación de tecnologías como CRISPR/Cas9. Finalmente, la conservación biotecnológica (15.4%) evidencia la utilización de esta metodología para preservar especies amenazadas, mantener germoplasma y generar bancos biotecnológicos de interés ecológico.

PE2: ¿Qué técnicas y protocolos de embriogénesis somática se reportan, y en qué aspectos difieren respecto a los métodos convencionales de micropropagación in vitro?

Los resultados muestran que la embriogénesis somática indirecta es la técnica más frecuente, empleada en 51.3% de los estudios, lo que la consolida como la metodología predominante en la micropropagación in vitro. Asimismo, la embriogénesis somática directa aparece en el 15.4% de los estudios. Aunque menos utilizada, destaca por su ventaja en la reducción de la variación somaclonal y la obtención de embriones directamente desde el explante, sin pasar por la fase de callo. Además, un 10.3% de las investigaciones empleó técnicas combinadas, integrando procesos directos e indirectos según las características de la especie y sus requerimientos hormonales. Esta combinación revela la flexibilidad metodológica necesaria para optimizar la respuesta embrionaria en especies con comportamientos variables. Un porcentaje similar (10.3%) recurrió específicamente a la inducción de callo embriogénico, una fase crítica para maximizar la producción de tejidos competentes antes de la diferenciación. Asimismo, el 12.8% de los trabajos no especificó con claridad el tipo de técnica, evidenciando una brecha en la estandarización del reporte metodológico.

En relación con los protocolos, se muestra una amplia variabilidad en el uso de reguladores de crecimiento (principalmente 2,4-D, NAA, IAA, BAP, KIN y TDZ), así como en la composición del medio de cultivo (MS, WPM, DKW, QL, OPCM) y en las condiciones ambientales (oscuridad, fotoperiodo, temperatura, osmóticos y antioxidantes). Se observaron estrategias diferenciadas para favorecer la maduración embrionaria, como la adición de sorbitol, extractos naturales, compuestos antioxidantes (L-cisteína, ácido ascórbico), cambios en la luz o periodos de incubación prolongados. Varios estudios incorporaron fases adicionales como encapsulación de embriones, validación genética por marcadores y técnicas avanzadas como biorreactores o edición genética CRISPR/Cas9.

En cuanto a las diferencias con los métodos convencionales de propagación vegetal, los resultados muestran contrastes significativos. Se evidencia que las diferencias más marcadas son técnico–metodológicas (41.7%), debido a que los métodos tradicionales

dependen de procesos naturales con baja reproducibilidad, mientras que la embriogénesis somática permite un control altamente preciso de las etapas del proceso regenerativo. Le siguen las diferencias productivas–aplicadas (26.7%), que reflejan la capacidad de la embriogénesis somática para generar plantas en mayor número, con mayor homogeneidad clonal, sujeta a verificación de estabilidad genética y en periodos más cortos, superando limitaciones como estacionalidad, escasez de material vegetativo o problemas fitosanitarios. Las diferencias fisiológicas–bioquímicas (18.3%) destacan la capacidad de esta técnica para modular respuestas hormonales y celulares, favoreciendo la formación de tejidos embriogénicos bajo condiciones controladas. Por su parte, las diferencias genéticas (13.3%) indican que la embriogénesis somática reduce la variabilidad asociada a la reproducción sexual y, al mismo tiempo, puede generar variación somaclonal útil para programas de mejoramiento cuando es necesario.

PE3: ¿Cuáles son los principales avances, desafíos, limitaciones y aplicaciones actuales de la embriogénesis somática como herramienta biotecnológica para la micropropagación clonal de plantas in vitro?

Los resultados evidencian que la embriogénesis somática ha experimentado un avance significativo en los últimos años, consolidándose como una herramienta clave para la propagación clonal de plantas. Los avances más representativos se centran en la optimización de protocolos, que constituye el 33.9% de los aportes identificados. Este predominio demuestra el esfuerzo por perfeccionar medios de cultivo, balances hormonales y condiciones de incubación que influyen directamente en la eficiencia del proceso embriogénico. A esto se suman los avances genéticos y moleculares (21.4%), que integran rutas de señalización, genes marcadores y análisis celulares que contribuyen a una comprensión más profunda de la inducción y desarrollo de los embriones somáticos. Asimismo, los progresos en eficiencia y productividad (21.4%) muestran mejoras en la conversión de embriones en plántulas viables, con menor frecuencia de anormalidades y mayor sincronía en las etapas de desarrollo, lo que fortalece su aplicabilidad en cultivos industriales, forestales y medicinales. Además, el 17.9% representa avances asociados a los logros específicos por especie y primeras evidencias de embriogénesis somática.

Asimismo, surgen innovaciones tecnológicas (5.4%), como el uso de biorreactores y sistemas de inmersión temporal, que facilitan la producción masiva, automatizada y escalable de embriones somáticos.

En cuanto a los desafíos, predomina la categoría relacionada con los aspectos hormonales y fisiológicos (26.9%). Regular adecuadamente el equilibrio hormonal, las respuestas fisiológicas del explante y las condiciones que favorecen la inducción y el desarrollo embrionario sigue siendo un reto clave para mejorar la eficiencia del proceso. Le siguen los desafíos genéticos y moleculares (23.9%), asociados al conocimiento aún limitado sobre la regulación de la competencia embriogénica, la estabilidad genómica y los mecanismos que determinan la transición de una célula somática hacia un embrión somático. A continuación, se encuentran los desafíos vinculados a los aspectos productivos y de eficiencia (16.4%), que reflejan la necesidad de mejorar las tasas de inducción, proliferación y conversión, así como de garantizar la regeneración exitosa en distintos genotipos y especies. También se evidencian los desafíos técnicos de cultivo in vitro (14.9%), relacionados con el control de las condiciones de cultivo, la contaminación y la estandarización de procedimientos. Del mismo modo, los desafíos específicos de especie o recalcitrancia (10.4%) y los desafíos económicos y de reproducibilidad (7.5%) muestran que la variabilidad entre especies, los altos costos de implementación y la dificultad para replicar protocolos continúan afectando la adopción práctica de la embriogénesis somática.

Respecto a las limitaciones actuales, predomina la restricción productiva y de eficiencia (21.5%), puesto que muchas investigaciones reportan baja frecuencia de formación de embriones, embriones anormales o conversión limitada a plántulas viables. En segundo lugar, las limitaciones técnicas y de cultivo in vitro (19.0%) resaltan la sensibilidad del proceso a factores como concentración hormonal, fuente de carbono, fotoperiodo, temperatura y estado fisiológico del explante. Las limitaciones genéticas y moleculares (17.7%) reflejan la falta de comprensión completa del proceso embriogénico, mientras que las limitaciones hormonales y fisiológicas (16.5%) evidencian la dependencia del balance hormonal y el estrés inducido. También aparecen limitaciones económicas y de reproducibilidad (17.7%), que dificultan la escalabilidad en contextos con recursos limitados. Por último, las limitaciones específicas de especie y recalcitrancia (7.6%) muestran que la embriogénesis somática no es universalmente aplicable, ya que algunos genotipos presentan respuestas nulas o excesiva formación de callo no embriogénico.

Finalmente, las aplicaciones actuales de la embriogénesis somática demuestran su amplio potencial biotecnológico. La aplicación más destacada es la propagación masiva (26.1%), que permite la multiplicación rápida, uniforme y a gran escala de plantas, esencial en cultivos agrícolas, forestales y de valor comercial. En segundo lugar, se encuentran el

mejoramiento genético y biotecnología (23.5%) y la conservación de germoplasma y biodiversidad (20.9%). Ambas áreas resaltan la capacidad de la embriogénesis somática para regenerar plantas transformadas mediante CRISPR/Cas9 o biobalística, preservar genotipos valiosos, recuperar especies amenazadas y mantener material vegetal libre de patógenos. Asimismo, la producción de metabolitos secundarios (13.0%) muestra su utilidad para generar compuestos bioactivos de interés farmacéutico y nutracéutico bajo condiciones controladas. Aplicaciones emergentes incluyen la transformación genética (7.0%), los programas de reforestación (4.3%), la producción de semillas sintéticas (2.6%) y la certificación sanitaria y control de calidad (2.6%), todas las cuales refuerzan la versatilidad de la embriogénesis somática como plataforma para aplicaciones industriales, ecológicas y científicas.

3.4. Aportes de la investigación

A partir de la revisión sistemática de literatura realizada, se puede señalar que uno de los principales aportes consiste en el ordenamiento y sistematización de la evidencia encontrada sobre embriogénesis somática, lo que permite obtener una visión estructurada de las especies estudiadas, sus propósitos biotecnológicos, las técnicas y los protocolos utilizados. Asimismo, se ha podido presentar de manera ordenada información sobre los principales avances, desafíos, limitaciones y aplicaciones encontradas durante el periodo analizado. De esta manera, se ha organizado la información procedente de estudios realizados en diferentes especies y bajo distintas condiciones experimentales, obteniéndose un panorama estructurado del estado actual de la embriogénesis somática como herramienta biotecnológica.

Además, se ha identificado que, a pesar de los avances alcanzados en la optimización de protocolos, la respuesta embriogénica depende considerablemente de factores como la especie, el tipo de explante, los reguladores de crecimiento y las condiciones de cultivo que influyen en el desarrollo embrionario in vitro. En este marco, la investigación permite conocer que la embriogénesis somática indirecta es la técnica más utilizada dentro del corpus analizado. Sin embargo, este predominio no determina la superioridad de la técnica, sino que permite identificar cuál fue la metodología empleada con mayor frecuencia en las investigaciones revisadas.

De esta manera, el estudio aporta una base de referencia que puede orientar futuras investigaciones y favorecer el desarrollo de protocolos más eficientes, reproducibles y adaptados a las características particulares de cada especie.

Finalmente, esta revisión permite identificar áreas que requieren mayor atención en futuras investigaciones. Como se menciona luego en las recomendaciones, entre ellas se encuentran el incremento de la eficiencia del proceso de conversión de embriones somáticos en plantas viables, el estudio de protocolos para especies recalcitrantes y la validación y comparación de metodologías que permitan establecer protocolos interlaboratorio y mejorar la reproducibilidad experimental. Estas líneas de investigación podrían contribuir a ampliar el conocimiento disponible sobre esta técnica biotecnológica.

1. CONCLUSIONES

Primera: El estado actual de las investigaciones sobre la embriogénesis somática como proceso biotecnológico para la micropropagación clonal de plantas evidencia un campo consolidado y en expansión, caracterizado por avances metodológicos que destacan su aplicación en especies de alto interés económico, agrícola, medicinal y ambiental. La literatura confirma el predominio de la embriogénesis somática indirecta por su estabilidad y reproducibilidad, junto con el empleo de estrategias directas, combinadas o basadas en inducción de callo según el comportamiento de cada especie. Los protocolos reportados incorporan una amplia diversidad de reguladores de crecimiento, medios de cultivo, condiciones ambientales y tecnologías avanzadas como biorreactores, encapsulación, marcadores moleculares y edición génica, lo que diferencia esta técnica de los métodos convencionales al ofrecer mayor control técnico, uniformidad genética y eficiencia productiva. Aunque persisten desafíos relacionados con la eficiencia, la variabilidad entre especies, la regulación hormonal y la reproducibilidad inter laboratorio, los avances en optimización de protocolos, comprensión genética y tecnologías emergentes consolidan a la embriogénesis somática como una herramienta estratégica para la propagación masiva, el mejoramiento genético, la producción de metabolitos y la conservación biotecnológica.

Segunda: Las plantas investigadas mediante embriogénesis somática se concentran principalmente en especies alimenticias, que representan el 41.0% del total, destacándose su relevancia para la seguridad alimentaria y la agricultura intensiva. En cuanto al propósito biotecnológico, el porcentaje más elevado corresponde a la optimización de protocolos (25.6%), lo que evidencia que las investigaciones priorizan el perfeccionamiento de las condiciones experimentales para incrementar la eficiencia de la propagación in vitro de cultivos estratégicos**.**

Tercera: La técnica más utilizada es la embriogénesis somática indirecta, aplicada en el 51.3% de los estudios, debido a su capacidad para generar tejido embriogénico estable y reproducible. Respecto a las diferencias con los métodos convencionales, el aspecto con mayor predominio corresponde a las diferencias técnico-metodológicas (41.7%), lo que demuestra que la embriogénesis somática ofrece un control superior de las etapas regenerativas y una mayor eficiencia productiva frente a técnicas tradicionales dependientes de procesos biológicos menos reproducibles.

Cuarta: El principal avance identificado es la optimización de protocolos (33.9%), mientras que los desafíos más frecuentes se vinculan a aspectos hormonales y fisiológicos (26.9%). La limitación más relevante es la baja eficiencia del proceso (21.5%). También la aplicación más destacada corresponde a la propagación masiva (26.1%), consolidando a la embriogénesis somática como una herramienta estratégica para la multiplicación rápida y homogénea de plantas en contextos agrícolas, forestales y biotecnológicos.

2. RECOMENDACIONES

Primera: Se recomienda a los investigadores y laboratorios especializados en cultivo de tejidos vegetales profundizar en el estudio de especies recalcitrantes, incorporando enfoques fisiológicos y moleculares que permitan comprender los mecanismos que limitan su respuesta embriogénica; dado que, como señalan los resultados de esta investigación, la variabilidad entre especies continúa siendo uno de los principales obstáculos para la estandarización de protocolos y la eficiencia regenerativa, especialmente en cultivos de importancia agrícola y forestal.

Segunda: Se sugiere a los centros de investigación y universidades establecer protocolos interlaboratorio que permitan validar y comparar las metodologías utilizadas para la inducción, maduración y conversión de embriones somáticos, asegurando mayor reproducibilidad experimental; ya que diversos autores destacan que la falta de estandarización y la dependencia del ensayo-error representan limitaciones metodológicas que afectan la escalabilidad y aplicabilidad práctica de la embriogénesis somática como herramienta biotecnológica.

Tercera: Se recomienda a los equipos de investigación incorporar tecnologías avanzadas en futuros estudios, tales como análisis transcriptómicos, proteómicos, herramientas de edición genética y sistemas automatizados como biorreactores o inmersión temporal, debido a que los avances recientes evidencian que la integración de dichas innovaciones mejora significativamente la eficiencia, la calidad de los embriones somáticos y la capacidad de producción a gran escala, aspectos esenciales para la competitividad biotecnológica.

Cuarta: Se sugiere a instituciones públicas, viveros comerciales y programas de conservación implementar aplicaciones prácticas de la embriogénesis somática en áreas como la propagación masiva, la recuperación de especies amenazadas, la producción de metabolitos secundarios y el mejoramiento genético, considerando que esta investigación demostró que la técnica posee un amplio potencial para la generación de plantas homogéneas, la conservación de germoplasma y el fortalecimiento de cadenas productivas agrícolas, forestales y farmacéuticas.

3. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cordeiro D, Canhoto J, Correia S. Regulatory non-coding RNAs: Emerging roles during plant cell reprogramming and in vitro regeneration. Front Plant Sci. 2022 Nov 10;13.
2. Viana CM, Freire D, Abrantes P, Rocha J, Pereira P. Agricultural land systems importance for supporting food security and sustainable development goals: A systematic review. Science of The Total Environment. 2022 Feb;806:150718.
3. Bidabadi SS, Jain SM. Cellular, Molecular, and Physiological Aspects of In Vitro Plant Regeneration. Plants. 2020 Jun 1;9(6):702.
4. Campos NA, Panis B, Carpentier S. Somatic Embryogenesis in Coffee: The Evolution of Biotechnology and the Integration of Omics Technologies Offer Great Opportunities. Front Plant Sci. 2017 Aug 21;8.
5. Pasternak T, Steinmacher D. Plant Growth Regulation in Cell and Tissue Culture In Vitro. Plants. 2024 Jan 22;13(2):327.
6. Martínez MT, San-José M del C, Arrillaga I, Cano V, Morcillo M, Cernadas MJ, et al. Holm Oak Somatic Embryogenesis: Current Status and Future Perspectives. Front Plant Sci. 2019 Mar 22;10.
7. Mohammadi MA, Wai MH, Rizwan HM, Qarluq AQ, Xu M, Wang L, et al. Advances in micropropagation, somatic embryogenesis, somatic hybridizations, genetic transformation and cryopreservation for Passiflora improvement. Plant Methods. 2023 May 25;19(1):50.
8. Muguerza MB, Gondo T, Ishigaki G, Shimamoto Y, Umami N, Nitthaisong P, et al. Tissue Culture and Somatic Embryogenesis in Warm-Season Grasses—Current Status and Its Applications: A Review. Plants. 2022 May 7;11(9):1263.
9. Di Pauli V, Fontana PD, Lewi DM, Felipe A, Erazzú LE. Optimized somatic embryogenesis and plant regeneration in elite Argentinian sugarcane (Saccharum spp.) cultivars. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. 2021 Dec;19(1):171.
10. Hassan MM, Allam MA, Shams El Din IM, Malhat MH, Taha RA. High-frequency direct somatic embryogenesis and plantlet regeneration from date palm immature inflorescences using picloram. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. 2021 Dec;19(1):33.
11. Zanella LB, Degenhardt J, Steiner N, Tomasi J, Rigoni D, Quoirin M. Initiation of somatic embryogenesis in Pinus caribaea var. hondurensis using mature female gametophytes as explants. South African Journal of Botany. 2022 Sep;149:124–33.

12. Liu R, Xue Y, Ci H, Gao J, Wang S, Zhang X. Establishment of highly efficient plant regeneration of Paeonia ostii ‘Fengdan’ through optimization of callus, adventitious shoot, and rooting induction. Hortic Plant J. 2022 Nov;8(6):777–86.
13. Shekhawat MS, Kannan N, Manokari M, Priyadharshini S. Regeneration of shoots via direct somatic embryogenesis from the leaf surface of Scaevola taccada (Gaertn.) roxb. – a climate resilient species of coastal areas. South African Journal of Botany. 2021 Aug;140:276–83.
14. Taheri-Dehkordi A, Naderi R, Martinelli F, Salami SA. A robust workflow for indirect somatic embryogenesis and cormlet production in saffron (Crocus sativus L.) and its wild allies; C. caspius and C. speciosus. Heliyon. 2020 Dec;6(12):e05841.
15. Bhusare BP, John CK, Bhatt VP, Nikam TD. Induction of somatic embryogenesis in leaf and root explants of Digitalis lanata Ehrh.: Direct and indirect method. South African Journal of Botany. 2020 May;130:356–65.
16. Priyadharshini S, Manokari M, Shekhawat MS. In vitro conservation strategies for the critically endangered Malabar river lily (Crinum malabaricum Lekhak & Yadav) using somatic embryogenesis and synthetic seed production. South African Journal of Botany. 2020 Dec;135:172–80.
17. Solangi N, Abul-Soad AA, Jatoi MA, Mirani AA, Markhand GS. Micropropagation of elite date palm (Phoenix dactylifera L.) cultivars Samany and Bertamoda through immature inflorescence explants. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 2023 Oct;22(7):430–8.
18. Ali D, Alarifi S, Pandian A. Somatic embryogenesis and in vitro plant regeneration of Bacopa monnieri (Linn.) Wettst., a potential medicinal water hyssop plant. Saudi J Biol Sci. 2021 Jan;28(1):353–9.
19. Manokari M, Priyadharshini S, Cokulraj M, Dey A, Faisal M, Alatar AA, et al. Exogenous implications of silver nitrate on direct and indirect somatic embryogenesis and germination of cold stored synseeds of Vanilla planifolia Jacks. ex Andrews. South African Journal of Botany. 2022 Nov;150:129–38.
20. Shashi, Bhat V. Plant regeneration via somatic embryogenesis and direct shoot organogenesis of a C4 bioenergy crop Pennisetum pedicellatum Trin. South African Journal of Botany. 2022 May;146:286–92.
21. Nabilah S, Handoyo T, Kim KM, Ubaidillah M. Expression analysis of OsSERK, OsLEC1 and OsWOX4 genes in rice (Oryza sativa L.) callus during somatic embryo development. Biocell. 2022;46(7):1633–41.

22. Siddiqui ZH, Mujib A, Abbas ZK, Noorani MS, Khan S. Vinblastine synthesis under the influence of CaCl2 elicitation in embryogenic cell suspension culture of Catharanthus roseus. South African Journal of Botany. 2023 Mar;154:319–29.
23. Arias-Rodríguez L, Rodríguez-Mendiola M, Arias-Castro C, Gutiérrez A, Reséndez D, Luján M, et al. Comparison of Apigenin, Quercetin and Kaempferol Accumulation and Total Flavonoid Content in Leaves, Embryogenic Cultures and Cell Suspension Cultures of Parsley (Petroselinum crispum). Phyton-International Journal of Experimental Botany. 2023;92(10):2807–23.
24. Kiaheirati H, Hashemabadi D, Kaviani B. In vitro propagation of the orchid Phalaenopsis circus via organogenesis and somatic embryogenesis using protocorm and thin cell layer explants. Italian Botanist. 2024 Sep 27;18:29–50.
25. Heedchim W, Te-Chato S, Yenchon S. Effect of Forchlorfenuron on Somatic Embryo Proliferation and Plantlet Regeneration in Oil Palm SUP-PSU1. Walailak Journal of Science and Technology (WJST). 2021 Feb 26;18(5).
26. Aurori A, Molnar I, Rakosy-Tican E. The effect of auxins in inducing organogenesis or somatic embryogenesis in mature sunflower zygotic embryo derived apex. Not Bot Horti Agrobot Cluj Napoca. 2020 Mar 31;48(1):150–61.
27. Huynh T, Cao T, Nguyen H, Tran T, Huynh M, Tran P, et al. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf callus with genetic stability validation using SCoT markers in Paramignya trimera, a medicinal plant native to Vietnam. Not Bot Horti Agrobot Cluj Napoca. 2024 Jun 18;52(2):13886.
28. Umami N, Respati AN, Rahman MM, Umpuch K, Gondo T. Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration from the Apical Meristem of Wrukwona Napiergrass (Pennisetum purpureum) Treated with Thidiozuron and Cupric Sulfate. Tropical Animal Science Journal. 2022 Jun;45(2):220–6.
29. Stefenon V, Marques M, Ribeiro F, Boing V, De Brum P, Dos Santos D, et al. In vitro callogenesis for the induction of somatic embryogenesis and antioxidant production in Eugenia uniflora. Biotecnol Veg [Internet]. 2020 [cited 2025 Oct 16];20(2):135–46. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2074-86472020000200135&lng=es&tlng=en.
30. López Santos VR, Gutiérrez Miceli FA, Silverio Gómez M del C, Lecona Guzmán CA. Disminución de la oxidación e inducción de estructuras proembriogénicas en Sideroxylon capiri (A. DC.) Pittier. Rev Mex Cienc For. 2024 Jun 27;15(84).
31. Wang J, Xia X, Qin G, Tang J, Wang J, Zhu W, et al. Somatic Embryogenesis and Plant

Regeneration from Stem Explants of Pomegranate. Horticulturae. 2023 Sep 14;9(9):1038.

32. Chagas EA, Crane JH, Chagas PC, Vendrame W, Costa BNS, Neto AR, et al. Somatic Embryogenesis of Myrciaria dubia (Kunth.) McVaugh. HortScience. 2023 Mar;58(3):293–300.
33. Ossai CO, Balogun MO, Maroya NG, Sonibare MA. Quantification of endogenous phytochemicals and determination of their exogenous effects in somatic embryogenesis pathways of white and water yams. In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant. 2023 Feb 22;59(1):29–38.
34. Nekrasova DA, Povydysh MN, Pivovarova NS, Sidorov KO. Obtaining Callus Culture of Sage Medicinal (Salvia officinalis L.) and its Characteristics. Drug development & registration. 2023 Sep 27;
35. Murugan T, Awasthi OP, Singh SK, Chawla G, Solanke AU, Kumar S, et al. Molecular and histological validation of modified in ovulo nucellus culture based high-competency direct somatic embryogenesis and amplitude true-to-the-type plantlet recovery in Kinnow mandarin. Front Plant Sci. 2023 Mar 8;14.
36. Omar R, Kushkevych I, Abd El-Salam M. Induction of somatic embryogenesis and ectopic proliferation in Tecoma stans (L.) Juss. ex Kunth cell suspension culture. In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant. 2024 Jun 17;60(3):396–402.
37. Goyal S, Chatterjee V, Kulkarni VM, Bhat V. Plant regeneration through somatic embryogenesis in cell suspensions of Cenchrus ciliaris L. Plant Methods. 2023 Oct 18;19(1):110.
38. Nzama PS, Myburg AA, Hills PN. Synergistic effects of L-glutamine and inorganic nitrogen molar ratios enhance the induction of somatic embryogenesis of Pinus maximinoi H.E. Moore. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 2024 Apr 6;157(1):15.
39. Ebrahimi M, Habashi AA, Emadpour M, Kazemi N. Recovery of virus-free Almond (Prunus dulcis) cultivars by somatic embryogenesis from meristem undergone thermotherapy. Sci Rep. 2022 Sep 2;12(1):14948.
40. Żabicka J, Żabicki P, Słomka A, Jędrzejczyk-Korycińska M, Nowak T, Sliwinska E, et al. Genotype-dependent mass somatic embryogenesis: a chance to recover extinct populations of Pulsatilla vulgaris Mill. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 2021 Aug 19;146(2):345–55.
41. Assem SK, Basry MA, Taha TA, El-Aziz MHA, Alwa T, Fouad WM. Development of

an in vitro regeneration system from immature inflorescences and CRISPR/Cas9-mediated gene editing in sudangrass. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. 2023 Dec;21(1):58.

42. Khalifa AM, Eid MA, Gaafar RM, Saad-Allah KM, Gad D. Induction of bioactive constituents and antioxidant enzyme activities in Achillea fragrantissima (Forskal) callus cultures using ZnO nanoparticles. In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant. 2023 Dec 25;59(6):808–24.
43. Klimek-Chodacka M, Kadluczka D, Lukasiewicz A, Malec-Pala A, Baranski R, Grzebelus E. Effective callus induction and plant regeneration in callus and protoplast cultures of Nigella damascena L. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC). 2020 Dec 21;143(3):693–707.
44. Pujari I, Thomas A, Rai PS, Satyamoorthy K, Babu VS. In vitro bioproduction and enhancement of moscatilin from a threatened tropical epiphytic orchid, Dendrobium ovatum (Willd.) Kraenzl. 3 Biotech. 2021 Dec 22;11(12):507.
45. Méndez-Hernández H, Galaz-Ávalos R, Quintana-Escobar A, Pech-Hoil R, Collí-Rodríguez A, Salas-Peraza I, et al. In Vitro Conversion of Coffea spp. Somatic Embryos in SETISTM Bioreactor System. Plants. 2023 Aug 25;12(17):3055.
46. Carrillo-Bermejo EA, Brito-Argáez L, Galaz-Ávalos RM, Barredo-Pool F, Loyola-Vargas VM, Aguilar-Hernández V. Protein profile changes during priming explants to embryogenic response in *Coffea canephora* : identification of the RPN12 proteasome subunit involved in the protein degradation. PeerJ. 2024 Nov 11;12:e18372.
47. Heedchim W, Niha C, Yenchon S, Te-chato S. Development of somatic embryogenesis of mangrove fan palm (Licuala spinosa Thunb.) from culturing immature zygotic embryo. Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization. 2023;21(2):143–148. doi:10.1017/S1479262123000540.
48. Guan Y, Li SG, Fan XF, Su ZH. Application of Somatic Embryogenesis in Woody Plants. Front Plant Sci. 2016 Jun 24;07.
49. Bian D, Wu Y. Enduring and Stable Surface Dielectric Barrier Discharge (SDBD) Plasma Using Fluorinated Multi-Layered Polyimide. Polymers (Basel). 2018 Jun 2;10(6):606.
50. Kebaili H, Kameche M, Innocent C, Benayyad A, Kosimaningrum WE, Sahraoui T. Scratching and transplanting of electro-active biofilm in fruit peeling leachate by ultrasound: re-inoculation in new microbial fuel cell for enhancement of bio-energy production and organic matter detection. Biotechnol Lett. 2020 Jun 6;42(6):965–78.

51. Cardoso JC, Zanello CA, Chen JT. An Overview of Orchid Protocorm-Like Bodies: Mass Propagation, Biotechnology, Molecular Aspects, and Breeding. Int J Mol Sci. 2020 Feb 2;21(3):985.
52. Sun H, Zhang Y, Wu S, Dong R, Angelidaki I. Innovative operation of microbial fuel cell-based biosensor for selective monitoring of acetate during anaerobic digestion. Science of The Total Environment. 2019 Mar;655:1439–47.
53. Zerrouki A, Kameche M, Kebaili H, Boukoussa IS, Flitti MA, Ilikti H, et al. An investigation on polymer ion exchange membranes used as separators in low-energy microbial fuel cells. Polymer Bulletin. 2018 Nov 12;75(11):4947–65.
54. Poetini MR, Musachio EAS, Araujo SM, Almeida FP, Dahleh MMM, Bortolotto VC, et al. Iron overload during the embryonic period develops hyperactive like behavior and dysregulation of biogenic amines in Drosophila melanogaster. Dev Biol. 2021 Jul;475:80–90.
55. Campos-Boza S, Vinas M, Solórzano-Cascante P, Holst A, Steinmacher DA, Guerra MP, et al. Somatic embryogenesis and plant regeneration from transverse thin cell layers of adult peach palm (Bactris gasipaes) lateral offshoots. Front Plant Sci. 2022 Sep 28;13.
56. García-González J, Lacek J, Weckwerth W, Retzer K. Throttling Growth Speed: Evaluation of aux1-7 Root Growth Profile by Combining D-Root system and Root Penetration Assay. Plants. 2022 Feb 27;11(5):650.
57. Bogdanović MD, Ćuković KB. Secondary Somatic Embryogenesis in Plants: From Cellular Mechanisms to Biotechnological Potential. Plants. 2025 Nov 7;14(22):3413.
58. Luo Y, Zhang L, Li W, Xu M, Zhang C, Wang L. HS1 Is Involved in Hygromycin Resistance Through Facilitating Hygromycin Phosphotransferase Transportation From Cytosol to Chloroplast. Front Plant Sci. 2020 May 27;11.
59. Lacek J, García-González J, Weckwerth W, Retzer K. Lessons Learned from the Studies of Roots Shaded from Direct Root Illumination. Int J Mol Sci. 2021 Nov 26;22(23):12784.
60. Hwang HD, Kwon SH, Murthy HN, Yun SW, Pyo SS, Park SY. Temporary Immersion Bioreactor System as an Efficient Method for Mass Production of In Vitro Plants in Horticulture and Medicinal Plants. Agronomy. 2022 Jan 29;12(2):346.
61. Carra A, Wijerathna-Yapa A, Pathirana R, Carimi F. Development and Applications of Somatic Embryogenesis in Grapevine (Vitis spp.). Plants. 2024 Nov 7;13(22):3131.
62. Nic-Can GI, Galaz-Ávalos RM, De-la-Peña C, Alcazar-Magaña A, Wrobel K, Loyola-Vargas VM. Somatic Embryogenesis: Identified Factors that Lead to Embryogenic

Repression. A Case of Species of the Same Genus. PLoS One. 2015 Jun 3;10(6):e0126414.

63. Méndez-Hernández HA, Ledezma-Rodríguez M, Avilez-Montalvo RN, Juárez-Gómez YL, Skeete A, Avilez-Montalvo J, et al. Signaling Overview of Plant Somatic Embryogenesis. Front Plant Sci. 2019 Feb 7;10.
64. Dubiella U, Serrano I. The Ubiquitin Proteasome System as a Double Agent in Plant-Virus Interactions. Plants. 2021 May 6;10(5):928.
65. Márquez-López RE, Pérez-Hernández C, Ku-González Á, Galaz-Ávalos RM, Loyola-Vargas VM. Localization and transport of indole-3-acetic acid during somatic embryogenesis in Coffea canephora. Protoplasma. 2018 Mar 8;255(2):695–708.
66. Ikeuchi M, Ogawa Y, Iwase A, Sugimoto K. Plant regeneration: cellular origins and molecular mechanisms. Development. 2016 May 1;143(9):1442–51.
67. Dessì P, Rovira-Alsina L, Sánchez C, Dinesh GK, Tong W, Chatterjee P, et al. Microbial electrosynthesis: Towards sustainable biorefineries for production of green chemicals from CO2 emissions. Biotechnol Adv. 2021 Jan;46:107675.
68. Seo JH, Kang BK, Dhungana SK, Oh JH, Choi MS, Park JH, et al. QTL Mapping and Candidate Gene Analysis for Pod Shattering Tolerance in Soybean (Glycine max). Plants. 2020 Sep 8;9(9):1163.
69. Ghosh PK, Ghorai S, Bhunia R, Samanta A, Bose S, Mondal MSA, et al. Synthetic seed technology and in vitro conservation of vegetable germplasm: a review. Vegetos. 2025 May 24;
70. Škoro N, Živković S, Jevremović S, Puač N. Treatment of Chrysanthemum Synthetic Seeds by Air SDBD Plasma. Plants. 2022 Mar 29;11(7):907.