

REIVINDICACIONES

1. Un método para obtener fibras a partir de células meristemáticas vegetales, caracterizado porque comprende los pasos de:

- (a) identificar y aislar células meristemáticas cambiales vegetales;
- (b) multiplicar las células meristemáticas cambiales aisladas;
- (c) inducir la producción de estructuras similares a fibra a partir de las células meristemáticas cambiales cultivadas; y
- (d) producir fibras a partir de células similares a fibra (protofibras).

2. El método de la reivindicación 1 en donde la identificación de células meristemáticas cambiales del paso (a) se hace mediante tinción selectiva de células.

3. El método de la reivindicación 1 en donde el aislamiento de las células del paso (a) se realiza por medio de cortes histológicos en el punto de la planta identificado por la tinción.

4. El método de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la multiplicación de las células meristemáticas cambiales del paso (b) se realiza mediante el cultivo celular *in vitro* de dichas células en un primer medio de cultivo.

5. El método de la reivindicación 4 en donde dicho primer medio de cultivo comprende macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, antioxidantes y fitohormonas.

6. El método de la reivindicación 5, en donde las fitohormonas se seleccionan del grupo que consiste de compuestos similares a auxina, citoquininas, giberelinas, etileno, ácido abscísico y mezclas de los mismos.

7. El método de acuerdo con las reivindicaciones anteriores, en donde la inducción de las estructuras similares a fibra del paso (c) se lleva a cabo en un segundo medio del cultivo.

8. El método de acuerdo con la reivindicación 7, en donde la inducción de estructuras similares a fibra del paso (c) se lleva a cabo en dos etapas, la primera un recipiente sometido a agitación y la segunda en un biorreactor tipo columna de burbujeo.

9. El método de las reivindicaciones anteriores, en donde el segundo medio de cultivo comprende, macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, antioxidantes y fitohormonas, en donde las fitohormonas que hacen parte del segundo medio de cultivo son diferentes de aquellas presentes en el primer medio de cultivo.

10. El método de la reivindicación 9 en donde las fitohormonas del segundo medio de cultivo se seleccionan del grupo que consiste de auxinas, giberelinas, citoquininas, ácido abscísico y mezclas de las mismas..

11. Un método para identificar y aislar células meristemáticas cambiales del tejido xilemático, caracterizado porque comprende los pasos de:

(i) tomar segmentos de tallos apicales del material vegetal y sumergirlos en una solución de un primer reactivo de tinción;

(ii) realizar cortes tangenciales en diferentes alturas de la planta;

(iii) identificar bajo el microscopio las células teñidas e identificar los componentes del tejido xilemático;

(iv) tomar segmentos de tallos apicales del material vegetal y sumergirlos en una solución de un segundo reactivo de tinción;

(v) realizar cortes transversales y tangenciales en diferentes alturas de la planta;

(vi) analizar bajo el microscopio las células teñidas e identificar la altura donde se encuentran las células meristemáticas cambiales de interés;

(vii) realizar nuevos cortes tangenciales de segmentos delgados del material vegetal en la altura donde se hayan identificado células meristemáticas cambiales de interés para obtener explantes;

(viii) introducir los explantes obtenidos en el paso (vii) en un medio de cultivo líquido que contiene una enzima; y

(ix) verificar la presencia de células libres;

donde la enzima contenida en el medio de cultivo líquido del paso (viii) se selecciona del grupo que comprende pectinasas, celulasas, hemicelulasas y mezclas de las mismas.

12. El método de la reivindicación 11, en donde el primer reactivo de tinción del paso (i) es un reactivo de tinción vital.

13. El método de la reivindicación 12, en donde el reactivo de tinción vital se selecciona del grupo que consiste de anilina rosa y anilina azul.

14. El método de la reivindicación 13, en donde el paso (i) se lleva a cabo en dos reactivos de tinción, uno en anilina rosa y otra en anilina azul.

15. El método de la reivindicación 11, en donde el segundo reactivo de tinción es un marcador químico.

16. El método de la reivindicación 15, en donde el marcador químico permite determinar la síntesis de lignina.

17. El método de la reivindicación 16, en donde el marcador de lignina es nitrotetrazolium (NBT).

18. Un método para multiplicar células meristemáticas cambiales aisladas caracterizado porque comprende los pasos de:

(i) establecer una suspensión de células meristemáticas cambiales libres a un medio de cultivo líquido;

(ii) mantener una suspensión estable de entre 2 g/L a 15 g/L en peso seco de células; y

(iii) realizar subcultivos de la suspensión estable del paso (iii) adicionando entre 1 g/L y 15 g/L en peso seco de células en medio de cultivo fresco y mantener dichos subcultivos en agitación permanente.

19. El método de la reivindicación 18, en donde el método se lleva a cabo junto con la irradiación lumínica de la suspensión por medio de un sistema de diodos de emisión de luz.

20. El método de la reivindicación 18, en donde el paso (i) se lleva a cabo en dos etapas, la primera un recipiente sometido a agitación y la segunda en un biorreactor tipo columna de burbujeo.

21. Un método para la obtención de estructuras similares a fibra a partir de células meristemáticas cambiales cultivadas, caracterizado porque comprende:

(i) suspender células meristemáticas en un primer medio de cultivo que comprende, macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, antioxidantes y fitohormonas;

(ii) tomar las células meristemáticas del paso (i) y re-suspenderlas en un segundo medio de cultivo que comprende, macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, antioxidantes y fitohormonas;

(iii) mantener la suspensión en agitación por un primer periodo de inducción;

(iv) separar las células del medio de cultivo y adicionar nuevamente el segundo medio de cultivo fresco;

(v) mantener la suspensión en agitación por un segundo periodo de inducción;

donde el segundo medio de cultivo comprende fitohormonas diferentes de aquellas del primer medio de cultivo.

22. El método de la reivindicación 21, en donde el método se inicia en un recipiente sometido a agitación y posteriormente se realiza en un biorreactor tipo columna de burbujeo.

23. El método de la reivindicación 21 o 22, en donde las fitohormonas del primer medio de cultivo se seleccionan del grupo que consiste de compuestos similares a auxina, citoquininas, giberelinas, etileno, ácido abscísico y mezclas de los mismos.

24. El método de las reivindicaciones 21 a 23, en donde las fitohormonas del segundo medio de cultivo se seleccionan del grupo que consiste de auxinas, giberelinas, citoquininas, ácido abscísico y mezclas de las mismas.

25. El método de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde adicionalmente se realiza el análisis transcriptómico de las células meristemáticas y de las estructuras similares a fibras.