Ministerio de Cultura y Educación
Universidad Nacional de San Luis
Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias
Departamento: Ciencias Agropecuarias
Area: Básicas Agronomicas

(Programa del año 2016)
(Programa en trámite de aprobación)
(Presentado el 22/08/2016 17:37:21)

I - Oferta Académica

Materia	Carrera	Plan	Año	Período
(Cursos Optativos Ingeniería Agronómica - Plan Ord. Nº 011/04) Optativa: Cultivo in vitro de Células y Tejidos Vegetales	Ingeniería Agronómica	011/0	2016	2° cuatrimestre

4

II - Equipo Docente

Docente	Función	Cargo	Dedicación
VERDES, PATRICIA ESTELA	Prof. Responsable	P.Adj Exc	40 Hs
FALCO Pier	Auxiliar de Práctico	A-Honor	4 Hs

III - Características del Curso

Credito Horario Semanal				
Teórico/Práctico	Teóricas	Prácticas de Aula	Práct. de lab/ camp/ Resid/ PIP, etc.	Total
Hs	Hs	Hs	Hs	Hs

Tipificación	Periodo
B - Teoria con prácticas de aula y laboratorio	2º Cuatrimestre

Duración			
Desde	Hasta	Cantidad de Semanas	Cantidad de Horas
08/08/2016	18/11/2016	14	60

IV - Fundamentación

En los últimos 40 años se ha desarrollado un grupo de herramientas tecnológicas asociadas a la producción vegetal. Estas tecnologías, basadas en el cultivo in vitro de células y tejidos vegetales, ofrecen una importante solución a la producción sostenida de especies vegetales de interés para el hombre.

Mediante la elaboración de protocolos adecuados para lograr regenerar plantas a partir de células aisladas o tejidos vegetales, es decir su cultivo in vitro, es posible la propagación de grandes volúmenes de plantas con sanidad controlada y en menor tiempo; así como el manejo de las mismas en espacios reducidos. El enorme potencial que posee esta metodología, ha propiciado que en los últimos años se haya incrementado el número de laboratorios de cultivo de tejidos en el país, para la producción comercial de plantas ornamentales y frutales, lo que ha motivado que algunos floricultores la estén utilizando como una alternativa viable en sus programas de producción.

Por otro lado, esta técnica es de gran utilidad en el campo de la investigación, como valiosa herramienta que colabora con las técnicas convencionales de selección genética, para investigar la estructura y la función de los genes vegetales, como así también proporcionar material vegetal que puede integrarse en un programa de selección ya establecido, y el estudio del desarrollo y fisiología del organismo. Asimismo, se puede utilizar como método para la conservación de recursos fitogenéticos y de plantas en peligro de extinción.

El conocimiento por parte del alumno, de estas técnicas alternativas de propagación y producción vegetal, se deben considerar como herramientas básicas y fundamentales para su desempeño en tareas con fines productivos y/o de

investigación, ya sean de carácter básico o aplicado; además de lograr un adiestramiento en trabajos de laboratorio que le permitirá desarrollar y poner en marcha distintos protocolos destinados al cultivo in vitro de tejidos vegetales; integrando, aplicando y profundizando los conocimientos adquiridos en otras asignaturas de la carrera.
Basándose en todo lo expuesto, la presente Asignatura Optativa tiene como propósito realizar una introducción a los conocimientos elementales y necesarios para comprender los principios del cultivo in vitro de tejidos vegetales; como así también, proponer experiencias de laboratorio que permiten implementar e integrar los conceptos teóricos con la práctica.

V - Objetivos / Resultados de Aprendizaje

Al finalizar el dictado de la asignatura, se pretende que los alumnos alcancen los siguientes objetivos:
- Aprehender los conocimientos teóricos que fundamentan el uso del cultivo in vitro en la producción vegetal.
- Identificar las características y el equipamiento de un laboratorio de cultivo de tejidos vegetales.
- Adquirir habilidad manual en el manejo de las técnicas in vitro, incluyendo manejo de equipos, preparación de medios y siembra de diferentes tejidos vegetales.
- Promover la capacidad de observación, análisis y discusión mediante la confrontación teórico-práctica.
- Conocer las diferentes técnicas de cultivo in vitro y su aplicación en la resolución de problemas agronómicos: sus limitaciones, y las perspectivas a medio y largo plazo.
- Integrar conocimientos de diferentes asignaturas de la carrera, para su aplicación en el cultivo in vitro de tejidos vegetales.

VI - Contenidos

Fundamentos y principios básicos

1. Introducción
Antecedentes. Terminología. Teoría de la totipotencia. Tipos de cultivos. Alcances y perspectivas de las técnicas de Cultivo de Tejidos y Células Vegetales.

2. Organización y funcionamiento del laboratorio
Equipos e instrumental. Necesidades mínimas para el establecimiento de un laboratorio destinado al cultivo in vitro. Planeamiento de un laboratorio. Distribución de las áreas de trabajo.

3. La nutrición in vitro
Composición de diferentes medios de cultivo: sales inorgánicas, vitaminas, reguladores de crecimiento, aminoácidos, carbohidratos, agua, soportes, suplementos no definidos. Como seleccionar el medio adecuado. El cultivo en medio sólido, semi-sólido, líquido e inmersión temporal. Ventajas y Desventajas. Formas de preparar los medios de cultivos.

4. Organogénesis y crecimiento in vitro
Control de la organogénesis y el crecimiento: genotipo, reguladores de crecimiento, nutrición mineral, fuentes de carbono y otros compuestos orgánicos. Condiciones físicas del medio de cultivo, ambiente físico. Características de la planta madre. Tipo de explanto.

5. Técnicas de esterilización y manipulación asépticas
Instrumental y medios nutritivos: esterilización por medios físicos y químicos. Material vegetal: desinfección química.

6. Problemáticas del cultivo in vitro
Contaminación microbiana. Estrategias para el control de la contaminación. Prevención de la contaminación microbiana. Cultivos aparentemente estériles. Infecciones internas.
Oxidación. Variación somaclonal. Vitrificación. Especies recalcitrantes.

7. Aclimatización de vitroplantas.
Características de las plantas propagadas in vitro. Pre-acondicionamiento al transplante. Manejo de las condiciones ambientales: humedad relativa, luz y temperatura. Manejo de las labores técnicas de diversos sustratos. Transplante a suelo.

Aplicaciones del cultivo in vitro

8. Propagación clonal.
Propagación por yemas axilares o adventicias y segmentos nodales. Cultivo de tejido parenquimático. La estabilidad genética de las plantas micropropagadas. Medios de cultivo empleados en las fases de implantación, multiplicación y enraizamiento. Condiciones de cultivo. Interacción planta-bacteria como una investigación novedosa para la propagación. Características generales de las plantas obtenidas. La automatización en la propagación de plantas Sistemas automatizados y semi-automatizados.

9. Embriogénesis somática.
Tipos de explantes. Estado fisiológico del explante. Influencia del genotipo. Medios de Cultivo. Papel de las auxinas y citoquininas. Embriogénesis somática directa e indirecta. Proliferación. Establecimiento y mantenimiento de suspensiones embriogénicas. Embriogénesis somática en medio líquido. Maduración. Post-maduración y germinación. Encapsulación del embrión somático. El cultivo de embriones en biorreactores. Propagación masiva de plantas en biofábrica. La semilla artificial.

10. Callogénesis.
Selección de explantes. Establecimiento y mantenimiento de callos embriogénicos y organogénicos. Suspensiones celulares. Usos y limitaciones.

11. Obtención de material libre de virus, hongos y bacterias.
Cultivo de meristemas. Tratamiento por calor. Selección de plantas donadoras. Protocolos de obtención de plantas libres de virus.

12. Producción de metabolitos secundarios.
Principios básicos. Optimización de los medios de cultivo. Adición de precursores. Selección de líneas de alto rendimiento. Ciclo de crecimiento. Inmovilización de células. Biotransformación.

13. Conservación in vitro de germoplasma.
Conservación por crecimiento continuo. Conservación por mínimo crecimiento. Criopreservación.

14. Mejoramiento genético.
Ejemplos de métodos para el manejo de especies representativas de interés agronómico:
Cultivo de embriones inmaduros y maduros. Rescate de híbridos interespecíficos. Procedimiento general del cultivo. Aplicaciones prácticas.
Cultivo de órganos florales: anteras, polen, óvulos y ovarios. Obtención de haploides y homocigotas por diploidización, selección de mutantes. La androgénesis y los factores que la determinan.
Cultivo de protoplastos e hibridación somática. Aislamiento de protoplastos: fuente de material, tratamientos pre-enzimáticos, tratamientos enzimáticos, osmóticos. Cultivo y fusión de protoplastos.
Métodos de mutagénesis y selección in vitro.

VII - Plan de Trabajos Prácticos

1. Práctico de laboratorio: Organización y funcionamiento del laboratorio destinado al Cultivo in vitro de células y Tejidos vegetales.

2. Práctico de laboratorio: Manejo de catálogos sobre soluciones, materiales y reactivos utilizados en el cultivo in vitro. Preparación de soluciones madres de diversos medios base. Preparación de medios nutritivos. Aplicación de distintas metodologías para la esterilización de instrumental y medio de cultivo.

Las especies mencionadas son tentativas, en caso de no disponer de material vegetal o imprevistos operacionales, serán reemplazadas por otras especies similares.

3. Práctico de laboratorio: Preparación de material vegetal (sanidad, nutrición, estado fenológico y genética de la planta madre) y obtención de explantes. Cultivo de tejido parenquimático: procedimiento para la siembra y propagación in vitro de Sinningia speciosa, Saintpaulia spp., Kholeria spp., Streptocarpus spp. y Columnea spp.

4. Práctico de laboratorio: Cultivo de segmentos nodales de Prosopis caldenia Burk. y frutales de carozo y pepita: establecimiento, proliferación y enraizamiento.

5. Práctico de laboratorio: Cultivo de meristemas y ápices caulinares de Solanum tuberosum L., Ipomoea batata L. y Populus spp.

6. Práctico de laboratorio: Inducción de embriogénesis somática en Citrus spp., Zea mays L. y Daucus carota. Obtención de plantas haploides: escisión y cultivo de anteras de Secale cereale L., Triticale y Capsicum annuum.

7. Práctico de laboratorio: Variación somaclonal: cultivo de callos e inducción de organogénesis en Allium sativum L.

8. Práctico de laboratorio: Rescate de embriones maduros e inmaduros: prevención de abortos embrionarios en Prunus spp. y de híbridos Zea mays x Trisapcum dactyloides.

9. Práctico de laboratorio: Conservación de germoplasma en Prosopis caldenia Burk.

10. Práctico de laboratorio: Manejo de las vitroplantas en invernadero: transplante de las plántulas obtenidas in vitro. Control de las condiciones ambientales y de sustratos durante el proceso de adaptación.

11. Evaluación de los ensayos de cultivos de tejidos realizados durante el cuatrimestre.

12. Presentación del seminario bibliográfico elaborado por cada alumno, sobre algún tema de cultivo de tejidos de su interés particular.

VIII - Regimen de Aprobación

Régimen de aprobación por examen final

I. Régimen de Alumnos regulares
I.1. Requisitos necesarios para regularizar la asignatura:
1. Aprobar 2 (dos) exámenes parciales teórico-prácticos. La aprobación de cada uno de ellos se logrará con la resolución correcta del 50% (como mínimo) de las actividades propuestas.
2. Asistencia al 70% de los Trabajos Prácticos.
3. Cada parcial, en caso de no aprobación, tiene dos posibilidad de recuperación, que también se aprobará con la resolución del 60% de las actividades propuestas (Ord. CS Nº 32/14).

I.2. Requisitos necesarios para la aprobación de la asignatura:
Aprobar un examen oral: Programa de examen con extracción de dos bolillas y evaluación del tribunal.

II. Régimen de Alumnos Libres
Debido a la modalidad teórico-práctica de la asignatura, no se admite este régimen de aprobación.

Régimen de promoción sin examen final

I. Requisitos necesarios para promocionar la asignatura sin examen final:
1. Asistir al 80% de los Trabajos Prácticos programados.
2. Aprobar 2 (dos) exámenes parciales teórico-prácticas, la aprobación de cada uno de ellos se logrará con la resolución correcta del 70% (como mínimo) de las actividades propuestas. Cada parcial, en caso de no aprobación, tiene dos posibilidades de recuperación, que también se aprobarán con la resolución del 70% de las actividades propuestas (Ord. CS Nº

32/14).
3. Aprobar la actividad final integradora de índole teórico-práctica con el 70% (como mínimo), al finalizar el cuatrimestre.
4. Elaborar informes de laboratorios.
5. Elaborar en forma individual un seminario bibliográfico sobre alguna aplicación de cultivo in vitro de una especie de interés agronómico.
6. La nota mínima final para promocionar la asignatura es 7. La nota final de promoción resultará del promedio de todas las actividades evaluativas y del trabajo final de acuerdo a los siguientes criterios de ponderación:
20% Primera evaluación parcial.
20% Segunda evaluación parcial.
10% Informes de laboratorio.
30% Actividad integradora + Resolución de las actividades semanales propuestas en la Plataforma Educativa Moodle2: http://moodle2.fices.unsl.edu.ar/moodle/course/view.php?id=27
20% Seminario bibliográfico.

IX - Bibliografía Básica

[1] DEBERGH, P.C., ZIMMERMAN,R.H. 1991. Micropropagation: Technology and Application. Kluwer Academic Publishers.
[2] DODDS, J. and L. ROBERTS. 1982. Experiments in Plant Tissue Culture. Cambridge Univ. Press, UK. 178p. http://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PNABD686.pdf
[3] ECHENIQUE, V.; RUBINSTEIN, C. y MROGINSKI, L.. 2004. Biotecnología y Mejoramiento vegetal. Ediciones INTA. 446 pp.
[4] http://www.inta.gov.ar/ediciones/2004/biotec/biotec.htm
[5] GEORGE, E.; HALL, M. y GEERT-JAN De KLERK. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. 3rd Edición. Springer. 498 pp.
[6] http://www.academia.edu/3155503/Plant_Tissue_Culture_by_Edwin_F._George
[7] HURTADO, D. y M. MERINO. 1994. Cultivo de tejidos vegetales. Ed. Trillas, México. 232 p.
[8] LEVITUS, G.; ECHENIQUE, V.; RUBINSTEIN, C.; HOPP, E. y MROGINSKI, L. 2010. Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II. Ediciones INTA. 650 pp.
[9] http://intainforma.inta.gov.ar/wp-content/uploads/2010/09/bio_WEB.pdf
[10] MARGARA, J. 1986. Multiplicación vegetativa y cultivo in vitro. Ed. Mundi-Prensa, Madrid.
[11] PIERIK, R. 1990. Cultivo in vitro de la Plantas Superiores. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid. 326 p.
[12] PONCE, J. 1998. Propagación y mejora de plantas por Biotecnología. Vol.1. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Cuba. 400 p.
[13] ROCA W. y L. MROGINSKI. 1991. Cultivos de tejidos de en la agricultura. Fundamentos y Aplicaciones. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali, Colombia. 970 pp.
[14] http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/cultivo_de_tejidos.htm
[15] ROSSELL C. Y VILLALOBOS A. (eds.). 1990. Fundamentos teórico-prácticos del cultivo de tejidos vegetales. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la Alimentación. Roma.
[16] THORPE, T. 1981. Plant Tissue Culture: Methods and Applications in Agriculture. Academic Press, New York. 379 p.

X - Bibliografia Complementaria

[1] AHUJA, M. R. 1993. Micropropagation of Woody Plants. Kluwer Academic Publishers.
[2] AMMIRATO, P., D. EVANS, W. SHARP Y Y. YAMADA. 1983. Handboock of Plant Cell Culture, Vol. 3 Crop Species. Mac Millan Publ. Co, New York.
[3] BHOJWANI, S. and M. RAZDAN. 1983 Chapt. 2 Laboratory Requirements and General Techniques. In: Plant tissue culture, Theory and Practice. Chapt. 6. Elsevier, Amsterdam. pp. 11-24.
[4] CASO, O. y J. FELTAN. 1988. La Propagación Clonal de las Plantas Cultivadas. Ciencia e Investigación 42 (6): 308-318.
[5] BRIGHT, S. y D. DURZAN. 1985. Cereal Tissue and Cell Culture. Martinus Nijhoff y Dr. W. Junk Publ. Dordretch, Neth. 304 p.
[6] DIXON, R. 1985. Plant Cell Culture: A practical approach. IRL Press Ltd., Oxford. 236 pp.
[7] FUENTEALBA, J. 1983. Plantas de papa libres de virus, mediante ápices meristemáticos. Agro Sur 11(2): 135-137.
[8] HARTMANN, H., D. KESTER y F. DAVIS. 1997. Pinciples of tissue culture for micropropagation. Part IV, Chap. 17. In: Plant Popagation, Principles and Practices. 6 th. ed. Prentice Hall. pp. 549-589.

[9] GEORGE, E.F. and SHERRINGTON, P.D. 1984. Plant Propagation by Tissue Culture. Exegetics Ltd. Eversley, England. Pp. 240-238.
[10] LINDSEY, K. y M. JONES. 1989. Biotecnología Vegetal Agrícola. Ed. Acribia S.A., Zaragoza, España. 275 p.
[11] MURASHIGUE, T. AND SKOOG, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15: 473-497.
[12] SIGMA CHEMICAL CO. Sigma Biosciences Plant Culture Catalogue 2003. Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri. 88p.
[13] SEEMAN, P. 1993. Utilización de técnicas de micropropagación. In: BARRIGA B., P. y M. NEIRA C. (eds.). Avances en producción y Sanidad Vegetal: Cultivos no tradicionales. Universidad Austral de Chile, Valdivia. pp. 87-145.
[14] TORRES, K. 1988. Tissue Culture Techniques for Horticultural Crops. Van Nostrand Reinhold Co., New York. 285 pp.
[15] REVISTAS PERIODICAS: Bio Cell, Crop Science, Euphytica, Journal of Heredity, Hereditas, yton, Investigación y Ciencia, In vitro cultures, Theorical and Applied Genetics (TAG).
[16] PÁGINAS WEB:
[17] http://www.argenbio.org/index.php?action=biblioteca&opt=8&view=1
http://www.biblioteca.secyt.gov.ar/homepage.htm
[18] http://allserv.rug.ac.be/~pdebergh/ind/content.html
[19] http://www.ivia.es/secivtv
[20] http://www.agro.agri.umn.edu/plant-tc/plant-tc.html
[21] http://www.fao.org/biotech/index_glossary.asp?lang=es
[22] http://www.argenbio.org/h/biblioteca/libro.php
[23] http://www.ciat.cgiar.org/biotechnology/cultivo_tejidos/contenido.pdf
[24] www.redbio.org/protocolos/index.htm
[25] http://www.ciat.cgiar.org/biblioteca/biblioteca_es/revistas_electronicas.htm
[26] http://www.ipgri.cgiar.org/Publications/pdf/946.pdf
[27] http://www.crean.org.ar/agriscientia

XI - Resumen de Objetivos

- Aprehender los conocimientos teóricos que fundamentan el uso del cultivo in vitro en la producción vegetal.
- Identificar las características y el equipamiento de un laboratorio de cultivo de tejidos vegetales.
- Adquirir habilidad manual en el manejo de las técnicas in vitro, incluyendo manejo de equipos, preparación de medios y siembra de diferentes explantes.
- Promover la capacidad de observación, análisis y discusión mediante la confrontación teórico-práctica.
- Conocer las diferentes técnicas de cultivo in vitro y su aplicación a la resolución de problemas agronómicos: sus limitaciones, y las perspectivas a medio y largo plazo.
- Integrar conocimientos de diferentes asignaturas de la carrera, para su aplicación en el cultivo in vitro de tejidos vegetales.

XII - Resumen del Programa

Fundamentos y principios básicos
1. Introducción
2. Organización y funcionamiento del laboratorio
3. La nutrición in vitro
4. Organogénesis y crecimiento in vitro
5. Técnicas de esterilización y manipulación asépticas
6. Problemáticas del cultivo in vitro
7. Aclimatización de vitroplantas.

Aplicaciones del cultivo in vitro
8. Propagación clonal.
9. Embriogénesis somática.
10. Callogénesis.
11. Obtención de material libre de virus, hongos y bacterias.
12. Microinjerto.
13. Producción de metabolitos secundarios.
14. Mejoramiento genético.

XIII - Imprevistos

Las especies mencionadas son tentativas, en caso de no disponer de material vegetal o imprevistos operacionales, serán reemplazadas por otras especies similares.

XIV - Otros

ELEVACIÓN y APROBACIÓN DE ESTE PROGRAMA	
	Profesor Responsable
Firma:	
Aclaración:	
Fecha:	