Ministerio de Cultura y Educación **(Programa del año 2021)**
Universidad Nacional de San Luis
Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias
Departamento: Ciencias Agropecuarias
Area: Básicas Agronomicas

I - Oferta Académica

Materia	Carrera	Plan	Año	Período
(Cursos Optativos- Ingeniería Agronómica-Plan 011/04 -Mod.Ord.C.D.Nº025/12) Optativa: Cultivo in vitro de Células y Tejidos Vegetales	INGENIERÍA AGRONÓMICA	11/04 -25/1 2	2021	2° cuatrimestre

II - Equipo Docente

Docente	Función	Cargo	Dedicación
VERDES, PATRICIA ESTELA	Prof. Responsable	P.Asoc Exc	40 Hs
CARBONELL, XIOMARA RUTH	Auxiliar de Práctico	A.1ra Semi	20 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**
23/08/2021	26/11/2021	14	60

IV - Fundamentación

En los últimos 50 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 debe 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 el estudiante podrá lograr una capacitación en trabajos de laboratorio que le permitirá desarrollar y poner en marcha distintos protocolos destinados al cultivo in vitro de tejidos vegetales. Esta formación académica teórico-práctica permite integrar, aplicar y profundizar los conocimientos adquiridos en otras asignaturas de la carrera.
Por otra parte, esta asignatura se plantea con modalidad semipresencial (clases presenciales teórico-prácticas quincenales y semanales por Moodle FICA). Los nuevos escenarios y espacios de aprendizaje y enseñanza en la Universidad son herramientas que permiten que el estudiante administre sus tiempos de estudio, logre un aprendizaje significativo mediante diversas actividades y recursos colaborativos- constructivistas, como los que ofrece Moodle. Se permite la adaptación de la manera de enseñar a la manera de aprender de los estudiantes, quienes adquieren autonomía en el aprendizaje, competencias y habilidades en el uso de nuevas tecnologías comunicacionales.
El uso de Moodle permite que el estudiante explore los fundamentos teórico-prácticos de la asignatura, reflexione y discuta sobre las cuestiones conceptuales, integre conocimientos previos de otras asignaturas y construya nuevos conocimientos. De esta manera, aplicando los conceptos de clase invertida, el posterior desarrollo de los trabajos de laboratorio se lleva a cabo de manera más fluida y entendiendo con mayor fundamento los pasos o etapas que se están desarrollando de manera práctica.

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, adquirir habilidad manual para implementar experiencias de laboratorio que permitan 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.
- Desarrollar habilidades y competencias en el manejo de las TICs.

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. 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° Semana Presencial TEÓRICO-PRÁCTICO DE LABORATORIO 1: Áreas de trabajo del laboratorio: recorrida del Laboratorio de Genética y Biotecnología Vegetal y relevamiento del instrumental y equipamiento utilizado en Cultivo in vitro de tejidos vegetales. Preparación de medios nutritivos: medios de cultivos que se usarán en los siguientes Trabajos Prácticos. Esterilización: uso de autoclave y cámara de flujo de aire laminar.

- 3° Semana Presencial TEÓRICO-PRÁCTICO DE LABORATORIO 2: Preparación de material vegetal (sanidad, nutrición, estado fenológico y genética de la planta madre) y obtención de explantes. Cultivo de segmentos nodales de Prosopis caldenia Burk. Cultivo de tejido parenquimático: procedimiento para la siembra y propagación in vitro de Sinningia speciosa, Saintpaulia spp. Evaluación de los informes realizados en Práctico de Laboratorio anterior.

- 5° Semana: PRIMERA EVALUACIÓN PARCIAL.

- 7° Semana Presencial TEÓRICO-PRÁCTICO DE LABORATORIO 3: Callogénesis: cultivo de callos e inducción de organogénesis en Allium sativum L.
Evaluación de los ensayos realizados en Prácticos de Laboratorios anteriores.

- 9° Semana Presencial TEÓRICO-PRÁCTICO DE LABORATORIO 4: Siembra de meristemas y ápices meristemáticos de Solanum tuberosum L. Ensayos de Aclimatación. Manejo de las vitroplantas en invernadero: transplante de las plántulas obtenidas in vitro. Evaluación Final y Discusión de los ensayos realizados en los Prácticos de Laboratorios anteriores.

- 11° Semana Presencial: SEGUNDA EVALUACIÓN PARCIAL.

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

- 13° Semana: Evaluación de Integración.

Las actividades virtuales se llevarán a cabo mediante la Plataforma Moodle y clases en línea por Meet.

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. Cada parcial, en caso de no aprobación, tiene dos posibilidad de recuperación, que también se aprobará con la resolución del 50% 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. Aprobar 2 (dos) exámenes parciales teórico-prácticos, 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).

La primera evaluación parcial trata de la evaluación de conocimientos sobre los fundamentos y principios del Cultivo in vitro de tejidos y células vegetales. La segunda evaluación parcial es de aplicación de conocimientos de las distintas técnicas de Cultivo in vitro en la resolución de situaciones problemáticas (aprendizaje basado en problemas). Se entregará al estudiante la evaluación individual, con 24 hs horas para la resolución de los parciales, utilizando todas las herramientas didácticas y bibliografía discutidas en el curso. Cada estudiante presenta su evaluación y defiende su propuesta de aplicación de las distintas biotécnicas para el problema asignado. Cada estudiante tiene una situación problemática diferente, lográndose la interacción y aportes de los estudiantes para cada caso.
2. Aprobar la actividad final integradora de índole teórico-práctica con el 70% (como mínimo), al finalizar el cuatrimestre.
3. Elaborar informes de laboratorios de manera grupal.
4. Elaborar en forma individual un seminario bibliográfico sobre alguna aplicación de cultivo in vitro de una especie de interés agronómico.
5. La nota mínima final para promocionar la asignatura es 7. La nota final de promoción resultará de la ponderación de todas las actividades evaluativas y del trabajo final de acuerdo a los siguientes criterios de incidencia sobre la nota final:
15% Primera evaluación parcial.
15% Segunda evaluación parcial.
10% Informes de laboratorio.
40% Actividad integradora + Seminario bibliográfico.
20% Resolución de las actividades semanales propuestas en la Plataforma Educativa Moodle2

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://anterior.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] https://download.e-bookshelf.de/download/0000/0038/77/L-G-0000003877-0002333095.pdf
[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 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.
- Desarrollar habilidades y competencias en el manejo de las TICs.

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 en los Trabajos Prácticos son tentativas, en caso de no disponer de materiales vegetales o imprevistos operacionales, serán reemplazadas por otras especies que permitan cumplir con los objetivos previstos.
Bajo el contexto actual de dictado de las clases, las actividades de laboratorios tendrán una presencialidad adaptada, sujeta a las condiciones epidemiológicas.

XIV - Otros