



Programa sinóptico de la unidad curricular: **CULTIVOS VEGETALES *IN VITRO***

Unidad Curricular: Cultivos vegetales <i>in vitro</i>					Unidad Responsable: Dpto. de Biología				
Datos Unidad Curricular		Modalidad			Tipo Dedicación		Dedicación Total Unidad Curricular		
Código	Semestre	T	P	L	HTSP	HTSNP	CA	Total Horas por Semana (HS=CA X 3)	Total Horas por Semestre (HS X 16)
181415	8	2	2	4	2	6	4	12	192
Prelaciones: Haber aprobado hasta el 7° semestre, es decir 117 CA									

HSTP: Horas semanales de trabajo que se realiza en el aula o laboratorio y requiere preparación y trabajo adicional

HTSNP: Horas semanales que se realizan en el aula o laboratorio y no requieren de preparación o trabajo adicional

CA: créditos académicos

Justificación

Las técnicas de cultivos vegetales *in vitro* son en la actualidad una herramienta para las tecnologías que permiten un aumento en la propagación, diversidad y mejoramiento genético y la preservación del germoplasma vegetal. Su desarrollo en los últimos 40 años ha llevado a un conocimiento de los procesos de diferenciación celular, así como de sus bases moleculares.

La regeneración *in vitro* por organogénesis o embriogénesis somática, permite un aumento de la variabilidad genética y una multiplicación de germoplasma. La propagación y conservación de semillas artificiales hacen posible la preservación de la diversidad vegetal.

Requerimientos

El estudiante debe haber cursado las materias de Botánica, Bioquímica, Genética así como Fisiología Vegetal, ya que se estudian no sólo los procesos químicos y físicos, sino también los procesos de diferenciación celular que tienen lugar durante el programa de desarrollo de la planta, sino, como éstos se integran, modulan, mediante la presencia de fitohormonas de crecimientos y nutrientes. Además su aplicabilidad en la propagación, mejoramiento y selección del material vegetal de mejor calidad fitosanitaria

Objetivo general

Dar el conocimiento y las técnicas básicas que permitan comprender los procesos de diferenciación celular y de morfogénesis vegetal, y aplicar dichas técnicas en el cultivo de células, tejidos y órganos vegetales *in vitro* no solo para aumentar el conocimiento de los procesos vegetales, sino también, para su aplicación en la propagación, mejoramiento y selección del material vegetal de más calidad



Objetivos Específicos

- Implementar las herramientas necesarias para modular *in vitro* la plasticidad que presentan las plantas o una porción de ella, en presencia de fitoreguladores del crecimiento, macronutrientes, micronutrientes y otros componentes, en condiciones físico-químicas controladas y bajo condiciones asépticas
- Dar los diferentes medios de cultivo para establecer respuestas morfogénicas en diferentes sistemas vegetales modelo
- Explicar el desarrollo de callos a partir de tejido cambial en un medio de cultivo adecuado
- Estudiar el efecto de la luz en las respuestas morfogénicas.
- Establecer los conocimientos fundamentales que rigen la formación de embriones somáticos a partir de estos callos y la organogénesis directa
- Entender el efecto de los diferentes medios de cultivo en la propagación de sistemas vegetales modelo
- Establecer los fundamentos básicos en la obtención de Protoplastos y de cultivos de meristemas
- Valorar las diferentes metodologías de Crioconservación

Parte I. Teoría

UNIDAD I.

Tema 1. Introducción a los Cultivos de Tejidos *in vitro*

Historia de los cultivos vegetales *in vitro*. Condiciones de un Laboratorio de cultivos *in vitro*. Técnicas de esterilización y asepsia. Componentes de los medios de cultivo. Condiciones de cultivo. Tipos de explantes.

Tema 2. Procesos de Diferenciación

Introducción a la anatomía de las plantas. Diferenciación y dediferenciación celular. Xilogénesis. Factores que determinan estos procesos. Regulación de genes en la diferenciación. Formación de callo. Iniciación, mantenimiento, morfología y citología.

Tema 3. Procesos Morfogénicos

Embriogénesis, morfogénesis y regeneración de plantas. Factores morfogénicos. Embriogénesis somática. Tipos de organogénesis. Vías organogénicas. Marcadores bioquímicos. Micropropagación. Estados de la micropropagación.

UNIDAD II

Tema 4. Suspensiones Celulares

Obtención de suspensiones celulares. Cultivo de células aisladas. Crecimiento: patrones y medida. Número celular. Peso fresco, peso seco, contenido de proteína. Formación y aplicabilidad de metabolitos secundarios.

UNIDAD III

Tema 5. Protoplastos. Aislamiento: método y tipos de tejido. Cultivo: conteo, viabilidad, medios de cultivo, división. Mantenimiento. Regeneración de plantas. Fundamentos de la hibridación somática.

Tema 6. Cultivo de Meristemas



Organización del meristema apical. Aislamiento del meristema. Requerimientos: tamaño, edad, genotipo del explante. Obtención de plantas libres de virus. Propagación clonal de plantas.

UNIDAD IV

Tema 7. Obtención de Plantas Haploides. Androgénesis y ginogénesis. Cultivo de anteras y granos de polen. Condiciones de cultivo. Aplicación de haploides. Diploidización y selección de mutantes.

UNIDAD V

Tema 8. Conservación *in vitro* de Germoplasma. Técnicas básicas de almacenamiento de germoplasma. Procedimientos: crecimiento lento y criopreservación. Condiciones para la criopreservación. Factores limitantes.

Tema 9. Perspectivas de los Cultivos Vegetales *in vitro*

Incremento de la variabilidad genética. Mejoramiento de la selección de fenotipos. Multiplicación a gran escala del germoplasma. Propagación clonal. Producción de compuestos de interés industrial.

Parte II. Contenido Práctico

Práctica 1: Preparación de medios de cultivo.

Práctica 2. Aislamiento de explantes. Establecimiento y mantenimiento de callos de *Daucus carota*.

Práctica 3. Morfogénesis *in vitro*. El sistema *Nicotiana tabacum*.

Práctica 4. Embriogénesis somática. El sistema *Carica papaya* L.

Práctica 5. Establecimiento de suspensiones celulares.

Práctica 6. Protoplastos. Aislamiento y cultivo.

Práctica 7. Obtención de plantas haploides. Cultivo de anteras y granos de polen.

Práctica 8. Aislamiento de meristemas apicales de *Dianthus cariophyllum*.

Práctica 9. Cultivo de cotiledones, yemas cotiledonares y foliares, y tejido foliar.

Práctica de Campo:

Se realizará un mínimo de dos (2) salidas de campo.

Estrategias Metodológicas

Se desarrollarán en el dictado de la unidad curricular diferentes estrategias metodológicas como: Discusiones dirigidas, Clases expositivas, Seminarios, Lluvias de ideas, talleres, entre otras. Establecimiento de bioensayos

Estrategias de Evaluación

Parciales: 3 teóricos, 3 de laboratorio 60 %

Seminarios 20 %

Mapas conceptuales 20%



Bibliografía

- Bhojwani, S. S. 1990. Plant Tissues Culture: Applications and Limitations. Elsevier Science. Publishers, B. V. Amsterdam, The Netherlands. 461 pp.
- Buvat Roger. 1989. Ontogeny, cell differentiation, and structure of vascular plants. Springer Verlag. Berlin Heidelberg. 581 pp.
- Dixon, R. A. 1985. Plant Cell Culture. A Practical Approach. IRL Press, Oxford, England. 236 pp.
- Drapper, J., R. Scott, P. Armitage and R. Walden. 1988. Plant Genetic Transformation and gene Expression. Blackwell Scientific Publications. Oxford, Great Britain, 355 pp.
- Ferenczy, L. and G. L. Farkas. 1979. Advances in Protoplasts Research. Pergamon Press. LTD, Oxford Akadémiai Kiadó. Budapest. 511 pp.
- Glick B. R. and J. E. Thompson. 1993. Methods in Plant Molecular Biology and Biotechnology. CRC Press Inc. Boca Raton, F1. USA.
- Hurtado M., Daniel V. y María E. Merino. 1987. Cultivo de Tejidos Vegetales. Ed. Trillas, S.A. de C.V. México. 232 pp.
- Pharis, R. P. and Y. P. S. Bajaj. 1976. Applied and Fund. Aspects of Plant Cell. Tiss. and Organ Culture. Springer Verlag. Berlin - Heidelberg, Alemania. 803 pp.
- Reinert, J., and M. M. Yeoman. 1982. Plant Cell tissue Culture. A Laboratory Manual. Springer Verlag, Berlin - Heidelberg, Alemania.
- Roca, W. M., L. A. Mroginski. 1991. Cultivo de Tejidos en la Agricultura. Fundamentos y Aplicaciones. Centro de Agricultura Tropical (CIAT). Cali, Colombia. 970 pp.
- Schuler M. A, and R. E. Zielinki. 1989. Methods in Plant Molecular Biology. Academic Press. Inc. San Diego, California. USA. 171 pp.
- Shaw, C. H. 1988. Plant Molecular Biology: A Practical Approach. IRL Press. Oxford, England. 313 pp.
- Street, H. E. 1977. Plant Tissue and Cell Culture. Blackwell. Scientific Publishing. Oxford, England
- Torres, K. C. 1988. Tissue Culture Techniques for Horticultural Crops. Van Nostrand Reinhold. New York, USA. 285 pp.
- Trigiano R y D. Gray. 2005. Plant development and biotechnology. University CRR press. Boca Raton, USA.
- Weissbach A. and H. Weissbach. 1989. Cell Culture and Transformation. England. In: Methods Enzimology. Vol. 118, Section VII. Academic Press. Inc. Florida, USA. p. 537-623.