



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE RIO CUARTO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS FISICO-QUIMICAS Y NATURALES**  
**DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR.**

---

**Carrera:** Microbiología y Licenciatura en Ciencias Biológicas

**Asignatura:** Biotecnología Vegetal

**Código:** 2184

**Profesores responsables:** Dra. María Inés Medina y Dra. Elizabeth Agostini

**Equipo docente:** Dra. Melina Talano, Sabrina Ibañez,

**Año Académico:** 2017

**Régimen de la asignatura:** cuatrimestral

**Materias Correlativas para Lic. en Ciencias Biológicas:** Genética General, Biología Vegetal I, Biología de los Microorganismos.

**Materias Correlativas para Microbiología:** Genética General y/o Genética Microbiana, Microbiología II.

**Carga Horaria Total:** 70 h

**Detalle de horas de clase de acuerdo a la actividad:** 20 hs de trabajos prácticos, 10 hs de teóricos-prácticos y 40 hs de teóricos.

**Cupo:** 30 alumnos

**A. CONTEXTUALIZACIÓN DE LA ASIGNATURA: 2do Cuatrimestre**

**B. OBJETIVOS PROPUESTOS:** Que el alumno logre comprender la importancia de la biotecnología vegetal, sus principales aplicaciones y su impacto en el medio ambiente. Aportar los conocimientos básicos y las herramientas adecuadas para que adquiera habilidades en el manejo de esta tecnología, que presenta importantes perspectivas para su futura salida laboral.

**C. CONTENIDOS BÁSICOS DEL PROGRAMA A DESARROLLAR:**

El genoma vegetal. Elementos transponibles y transposones. Expresión génica en plantas. Métodos de cultivo *in vitro* de células y tejidos vegetales. Diferentes tipos de cultivo *in vitro*. Obtención y mantenimiento de los cultivos. Aplicaciones de los cultivos *in vitro*. Producción de metabolitos secundarios. Micropropagación. Bancos de germoplasma. Plantas transgénicas. Importancia en la agricultura y en la salud. Transferencia de genes. Promotores. Análisis de plantas transgénicas. Respuesta de la planta a estrés abióticos. Respuesta de la planta a estrés biótico. Manipulación genética a factores adversos. Resistencia a herbicidas. Resistencia a enfermedades fúngicas y bacterianas. Resistencia a insectos. Manipulación del metabolismo secundario. Fitorremediación. Biorreactores y las

plantas como biorreactores. Perspectivas de la Biotecnología vegetal.. Aspectos éticos del uso de plantas transgénicas. Patentes.

#### **D. FUNDAMENTACIÓN DE LOS CONTENIDOS:**

La biotecnología, actualmente, es sinónimo de "modificación genética", y se la define como: "la aplicación de organismos, sistemas o procesos biológicos para la producción de bienes y servicios útiles". Consiste en un gradiente de tecnologías que van desde las técnicas de la biotecnología "tradicional", largamente establecidas y ampliamente conocidas y utilizadas (e.g., fermentación de alimentos, control biológico), hasta la biotecnología moderna, basada en la utilización de las nuevas técnicas del ADN recombinante (técnicas de ingeniería genética), los anticuerpos monoclonales y los nuevos métodos de cultivo de células y tejidos.

La biotecnología vegetal es una extensión de la tradición de modificar las plantas, con una diferencia muy importante: la biotecnología vegetal permite la transferencia de una mayor variedad de información genética de una manera más precisa y controlada.

En la década del 80 se lograron dos grandes avances, que impulsaron la biotecnología vegetal:

- a) la aplicación de protocolos experimentales para la regeneración de plantas completas fértiles a partir de cultivos de células o tejidos *in vitro*
- b) el desarrollo de métodos para introducir el ADN exógeno, de modo directo o indirecto, seguido de su inserción en el genoma y su expresión.

Actualmente uno de los objetivos principales de la biotecnología vegetal es crear, por medio de la ingeniería genética, nuevas variedades de plantas, comúnmente denominadas **plantas transgénicas**, que presenten alguna característica que mejore su valor o sus propiedades respecto de las especies cultivadas ya existentes.

A través de estas técnicas las plantas pueden ser modificadas, básicamente, con dos finalidades:

- a) el mejoramiento de las características agronómicas y/o su calidad nutricional (plantas resistentes a insectos y otras enfermedades, resistencia a herbicidas, etc.)
- b) el uso de las plantas como reactores biológicos para la producción de biomoléculas.

Asimismo la biotecnología vegetal tiene aplicación en la conservación del medio ambiente (fitorremediación), ya que ha contribuido y continúa haciéndolo con la selección y mejora de especies vegetales que colaboran con el ambiente reparando, en ocasiones, los daños generados por las distintas actividades del hombre.

Otro área de interés en el campo de la biotecnología vegetal, que está íntimamente relacionada con la producción de biomoléculas, lo constituye el cultivo *in vitro* de células, tejidos y órganos vegetales ya que las células de una gran variedad de especies vegetales pueden cultivarse *in vitro* si se les suministra nutrientes y sustancias para el crecimiento, bajo estrictas condiciones asépticas. Los cultivos de células individuales (suspensiones celulares) pueden desarrollarse en un fermentador y ser utilizados, en lugar de cultivar la planta entera, para la producción de sustancias de alto valor económico como colorantes y aditivos, sustancias anticancerígenas, etc.

Por otra parte, además de la gran cantidad de investigaciones referidas a la utilización de diferentes sistemas de cultivo *in vitro* para la producción de biomoléculas se están produciendo compuestos de alto valor comercial en cultivos *in vitro* derivados de las plantas transgénicas.

De todo lo expuesto se desprende que el campo de la biotecnología vegetal, referido a la obtención de productos de interés industrial y farmacéutico constituye un área de continuo crecimiento y que sin dudas obtendrá resultados de una gran trascendencia en un futuro muy cercano.

Por lo tanto, se intentará que durante el dictado de la asignatura los alumnos adquieran los conocimientos básicos y precisos de los fundamentos, de las técnicas utilizadas y de las principales aplicaciones de la biotecnología vegetal, ya que el estudio y el conocimiento en este área les permitirá ser participantes activos del debate respecto del uso de los OGMs, aportando una opinión sólida y bien fundamentada y por otra parte adquirir los habilidades en el manejo de una tecnología con gran futuro y que presenta importantes perspectivas en lo que se refiere a la salida laboral de los estudiantes.

#### **Básicamente se propone en el dictado de la asignatura:**

a: Indagar sobre los conocimientos previos.

b: Proporcionar los conocimientos mínimos que permitan al alumno resolver problemas y estimular su pensamiento crítico.

c: Estimular el trabajo grupal, con el objeto de lograr la integración e interacción de los alumnos para fomentar la discusión y confrontación de ideas y contribuir a su formación, teniendo en cuenta la posibilidad de su futura incorporación a un equipo de trabajo.

#### **E. ACTIVIDADES A DESARROLLAR**

Se utilizarán diversas estrategias de aprendizaje: **1) Clases expositivas**, en las que se les proporcionarán los marcos conceptuales teóricos (40 Hs). **2) Trabajos prácticos de laboratorio** (20 Hs), donde deberán desarrollar habilidades en el manejo del material y equipamiento de laboratorio, discutirán los resultados y elaborarán un informe final integrador de los trabajos prácticos (bajo la supervisión de los docentes de manera continua) a manera de una publicación científica, que les permita desarrollar la capacidad para comunicar sus datos experimentales, constituyendo una importante etapa de aprendizaje de la producción científica escrita. **3) Clases de seminarios** (7 Hs), donde los estudiantes presentarán y discutirán un artículo científico relacionado con los temas tratados en las clases teóricas y prácticas, bajo la supervisión de los docentes. **4) Actividades de aula**, en donde los alumnos realizaran un trabajo grupal con creatividad, a partir del título de un trabajo publicado en una revista científica de prestigio, y redactará cada sección de ese trabajo como si él mismo lo hubiera realizado, escrito y publicado. También se realizará una prueba diagnóstica de conocimientos al comienzo de la asignatura y al final el bimestre se re-elaborarán las definiciones de estos conceptos analizando aciertos y/o desaciertos y modificando según sea necesario los conceptos, basados en un conocimiento y argumentación más profunda y criteriosa. (6 hs).

Se pretende de esta manera transmitir los conocimientos básicos, estimular la participación activa de los estudiantes y favorecer los procesos de construcción paulatina de los conocimientos.

#### **F. NÓMINA DE TRABAJOS PRÁCTICOS**

Trabajo Práctico N°1: Esterilización y siembra de semillas en medios de cultivo sólidos. Obtención de plántulas en condiciones de asepsia. Incubación. Inducción de callos en medios de cultivos suplementados con fitohormonas. Incubación.

Trabajo Práctico N°2: Obtención de cultivos de raíces transformadas. Mantenimiento. Subcultivo. Extracción de peroxidasa a partir de cultivos de raíces transformadas de tomate y nabo. Determinación de actividad enzimática. Estudio de perfiles de isoenzimas mediante electroforesis en geles de poliacrilamida.

Trabajo Práctico N°3: Análisis de plantas transgénicas por PCR

Trabajo Práctico N°4: Fitorremediación de fenol mediante la aplicación de cultivos de raíces transformadas. Determinación de fenol residual por ensayo colorimétrico.

Trabajo Práctico N°5: Visitas a empresas y/o Instituciones donde se desarrollan proyectos de biotecnología. Previstas: Bio-Sidus SA, Biogénesis-Bagó, INTA Castelar y UBA (Cátedra de Microbiología Industrial y Biotecnología- FFyB- UBA).

### **G: ACTIVIDADES AÚLICAS:**

**AA1: Evaluación diagnóstica:** Se realizan dos actividades, una al inicio de la asignatura y otra al finalizar el dictado de la misma.

**AA2: Redacción de una publicación científica:** Diagramación y escritura de un manuscrito científico con las secciones correspondientes, en un tema relacionado al programa de la asignatura y con la entrega del título original, figuras y datos mínimos de un trabajo original.

**AA 3: Bioinformática:** Introducción y herramientas básicas para el diseño de oligonucleótidos a utilizar en los trabajos prácticos.

**AA-4: Seminarios de bibliografía:** Exposición grupal de trabajos recientemente publicados en revistas científicas, previamente seleccionados por el docente.

### **H. HORARIOS DE CLASE: Martes, jueves y viernes**

**HORARIO DE CLASES DE CONSULTA:** 1 hora semanal.

### **I. MODALIDAD DE EVALUACIÓN:**

- **Exámenes parciales:** 2 exámenes escritos
- **Examen final:** escrito
- **Condiciones de Regularidad:** los alumnos deberán cumplir los siguientes requisitos mínimos:
  1. Asistencia al 80 % de las clases teóricas, seminarios y al 80 % de los trabajos prácticos. En la calificación de los trabajos prácticos se tendrá en cuenta la participación del estudiante y la presentación de un informe.
  2. Se deberán aprobar dos parciales con nota 5 o superior. Se podrá recuperar cada uno de ellos, una sola vez. Los parciales constan de una parte teórica y una parte práctica. Para aprobar el examen parcial se deberá tener el 50 % del examen que equivale a una calificación de 5 puntos.
- **Condiciones de Promoción:** los alumnos deberán cumplir los siguientes requisitos mínimos:

- 1- Asistir al 80 % de las clases teóricas, seminarios y al 80 % de los trabajos prácticos. En la calificación de los trabajos prácticos se tendrá en cuenta la participación del estudiante y la presentación de un informe.
- 2- Se deberán aprobar dos parciales con una calificación promedio de 7 puntos en cada uno de ellos (sin registrar instancias evaluativas de aprobaciones con notas inferiores a seis puntos). Por única vez, si habiendo aprobado una instancia de evaluación parcial, un alumno no hubiere alcanzado la nota mínima de seis puntos, tendrá derecho a presentarse a recuperatorio para intentar levantar esa nota y mantenerse en el sistema de promoción.
- 3- En el segundo examen parcial se realizarán preguntas integradoras referidas a los conceptos desarrollados durante el transcurso de la asignatura.
- 4- Los trabajos prácticos y seminarios deberán aprobarse con una nota promedio de 7 puntos.
- 5- A los estudiantes que estén en condiciones de obtener la promoción pero que no cuenten con las condiciones previas de correlatividades, se les conservará la promoción hasta finalizado el semestre siguiente.

## **J. PROGRAMA ANALÍTICO**

### **CONTENIDOS**

- 1- Descripción y objetivos de la asignatura. Concepto de la Biotecnología vegetal. Relación con otras disciplinas.
- 2- El genoma vegetal. Composición. Tamaño. Secuencias repetidas. Organización. Elementos transponibles y transposones. Expresión génica en plantas
- 3- Métodos de cultivo *in vitro* de células y tejidos vegetales. Breve historia y antecedentes del cultivo vegetal *in vitro*. Concepto de cultivo *in vitro*. Totipotencia celular. Laboratorio: Infraestructura, equipos y materiales. Cabina de flujo laminar. Medios de cultivo. Composición y preparación. Medios sólidos y líquidos. Recipientes utilizados. Esterilización. Obtención, preparación y desinfección del material vegetal. Fuentes y tipos de explantos. Obtención de plantas en condiciones de asepsia. Tipos de incubación. Factores físicos.
- 4- Diferentes tipos de cultivo *in vitro*. Cultivo de callos y suspensiones celulares. Inducción, mantenimiento y subcultivo. Estabilidad genética. Variación somaclonal. Cultivo de raíces transformadas: Transformación mediada por *Agrobacterium rhizogenes*, mecanismo de transformación. Obtención y mantenimiento de los cultivos. Principales características.
- 5- Aplicaciones de los cultivos *in vitro*. Potencial biosintético de los cultivos *in vitro*. Producción de metabolitos secundarios y enzimas. Biotransformaciones. Conservación de germoplasma. Micropropagación: principales conceptos, esquema general de la micropropagación, aplicaciones.
- 6- Plantas transgénicas. Concepto. Mejoramiento vegetal. Ventajas y desventajas de las técnicas tradicionales. Importancia en la agricultura y en la salud.
- 7- Transferencia de genes. Métodos de transformación mediada por vectores biológicos. *Agrobacterium tumefaciens* y *A. rhizogenes*. Vectores de cointegración y vectores binarios. Virus como vectores de genes. Inoculación en tallos, discos de hojas, infiltración de órganos florales, protoplastos. Genes de selección: nptII, bar. Genes reporteros: GUS,  $\beta$ -galactosidasa, luciferasa, GFP. Promotores constitutivos y tejido específicos.

- Métodos de transformación directa. Métodos químicos, Físicos. Electroporación. Microinyección, Biobalística.
- 8- Análisis de plantas transgénicas. Criterios de transformación. Pruebas físicas, fenotípicas y genotípicas.
  - 9- Respuesta de la planta a estrés abióticos. Resistencia a frío y a altas temperaturas. Resistencia a salinidad y a sequía. Resistencia a estrés oxidativo.
  - 10- Respuesta de la planta a estrés biótico. Resistencia a patógenos.
  - 11- Manipulación genética a factores adversos. Resistencia a herbicidas. Resistencia a enfermedades fúngicas y bacterianas. Resistencia a insectos.
  - 12- Manipulación del metabolismo secundario. Maduración de frutos. Producción de vitamina C. Durabilidad y pigmentación floral. Cambios en el contenido de lignina. Modificación del valor nutricional y propiedades para el consumo de los productos vegetales
  - 13- Fitorremediación. Concepto. Terminología básica. Ventajas y desventajas. Remoción de compuestos orgánicos e inorgánicos. Fitoextracción de metales pesados. Remoción de pesticidas. Remoción de fenol y derivados clorofenólicos. Aplicación de cultivos in vitro como herramientas para procesos de fitorremediación de contaminantes. Impacto ambiental.
  - 14- Biorreactores y las plantas como biorreactores.
  - 15- Perspectivas de la Biotecnología vegetal. Problemas específicos. Impacto en el ambiente, en la industria y en la sociedad. Aspectos éticos del uso de plantas transgénicas. Patentes.

## **K. Bibliografía**

- Agostini E, Milrad de Forchetti y Tigier HA** (1997) Production of peroxidases by hairy roots of *Brassica napus*. *Plant Cell Tiss. and Org. Cult.* **47**: 177-182.
- Agostini, Elizabeth.** "BIOTECNOLOGIA VEGETAL: EL CULTIVO IN VITRO DE CELULAS, TEJIDOS Y ORGANOS VEGETALES". Fuente: Cuadernos de divulgación científica y tecnológica 1: Aplicaciones en el campo de la biotecnología. I.S.B.N.987-982-59-9-3. Páginas: 41-52. Editorial de la Fundación Universidad Nacional de Río Cuarto, 2000, Río Cuarto (Cba) Argentina.
- Alberts B.** Bray D, Lewis J, Raff M. 1996. *Biología Molecular de la célula*, 3ra Ed. Omega, Barcelona.
- Bhojwani SS y Razdan MK.** (1996) *Plant Tissue Culture: Theory and Practice*, a revised edition. Elsevier Science, Amsterdam, The Netherlands. ISBN: 0-444-81623-2.
- Buchanan BB,** Gruissem W, Jones RL.( 2000). *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. Ed. American Society of Plant Physiologists. USA.
- Caballero JL,** Valpuesta V., Muñoz Blanco, J.( 2001) *Introducción a la Biotecnología Vegetal.*. Ed. CajaSur. España.
- Caso OH y Feltan J** (1988). La propagación clonal de las plantas cultivadas. *Ciencia e Investigación* **42**, **6**: 308-318.
- Curtis H y Barnes SN** (2000) *Biología*, sexta edic. española. Ed. Med. Panamericana.
- Darnell JE,** Lodish HF, Baltimore, D, Berk A, Zipursky SL, Matsudaira P. (1997). *Molecular cell biology*. 3rd ed. Scientific American Books.
- Dixon RA** (1985) Isolation and Maintenance of Callus and Cell Suspension Cultures. En: Rickwood D y Hames BD eds, *Plant Cell Culture, a practical approach*. IRL Press, Oxford, Inglaterra, pág. 1-20.

- Doran, P. M.** (1997) Hairy roots: Culture and Applications. Hardwood Academic Publishers. Amsterdam, The Netherlands. ISBN: 90-5702-117-X
- Flores H y Curtis WR** (1992) Approaches to understanding and manipulating the biosynthetic potential of plant roots. Biochemical Engineering VII. Annals of N. Y Acad. of Sci. **665**: 188-209.
- Hurtado D y Merino ME eds** (1991). En: Cultivo de tejidos vegetales, primera edición. Editorial Trillas, Méjico.
- Kung S and Wu R.** (1993). Transgenic Plants. vol 1 and vol 2. Academic press, Inc.
- Lehninger A.L,** Nelson DL, Cox MM (1993) Principios de Bioquímica. Ed. Omega, Barcelona.
- Levitus G, Echenique V; Rubinstein C; Hopp E.Mroginski L.** (2010) Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II. Ediciones INTA, 643Pag.
- Lewin, B.** (1998). Genes VI. Oxford University Press. USA.
- Lodish H,** Berk A, Zipursky S L, Matsudaira P, Baltimor D, Darnell S. (2002). Biología celular y molecular 4ta edición. Editorial Médica Panamericana. España.
- Mc Cutcheon S.C. y Schnoor J.L** (2003) Phytoremediation- Transformation and control of contaminants. Wiley Interscience Series – USA.
- Pierik RLM** (1990) En: Cultivo *in vitro* de plantas superiores. Ediciones Mundiprensa, Madrid, España.
- Pierpoint W S and Sherry P.R..** (1996). Genetic Engineering of Crop plants for resistance to pests and diseases. British Crop Protection Council.
- Potrykus F, Spangerberg, G.** (1995). Gene transfer to plants. Springer lab Manual.
- Roca WM y Mroginsky LA eds.** (1991). Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y aplicaciones. Cali: Centro Internacional de Agricultura tropical.
- Ryu DDY y Furusaki S. eds.** (1994). Advances in Plant Biotechnology. Elsevier Science, Amsterdam, The Netherlands. ISBN: 044489939-1.
- Sambrook** and Russell. (2001). Molecular Cloning A laboratory Manual 3ra. Ed. CSHL Press. N Y.
- Taiz , L and Zeiger E.** (1998). Plant Pysiology. 2 nd ed. Sinauer Associates , Inc., publishers. USA.
- Watson JD,** Gilman M, Witkowski J., Zoller M. Recombinant. (1992). DNA 2da ed. Ed.American Scientifican books USA:

## I. CRONOGRAMA DE CLASES Y PARCIALES

FECHA	ACTIVIDAD/TEMA		
		De 13 a 16 hs (03/10)	<b>Primer Parcial</b>
De 13 a 16 hs (15/08)	Teórico: Agostini		
		De 14 a 17 hs (06/10)	<b>TEÓRICO: Medina</b>
De 13 a 16 hs (16/08)	Teórico: Agostini		
<b>JUEVES ¿??</b>		De 13 a 16 hs (10/10)	TEORICO: Talano
De 14 a 17 hs (18/08)	Encuesta	11 o 12/10	<b>Recuperatorio primer parcial</b>
De 13 a 16 hs (22/08)	Teórico: Agostini		
		De 14 a 17 hs (13/10)	Aula de química: Seminarios
De 14 a 17 hs (25/08)	Práctico Nro. 1		
		De 13 a 16 hs (17/10)	TEORICO: Talano
De 13 a 16 hs (29/08)	Teórico: Agostini		
		De 14 a 17 hs (20/10)	TEORICO: Agostini
De 14 a 17 hs (01/09)	Práctico Nro. 2		
De 13 a 16 hs (05/09)	Teórico Medina		
		De 13 a 16 hs (24/10)	TEORICO: Agostini
De 14 a 18 hs (08/09)	Teórico: Medina		
		De 14 a 17 hs (27/10)	Aula de química: <b>Seminarios</b>
De 13 a 16 hs (12/09)	Teórico: Medina		
		De 13-16 hs (31/10)	Instructivo de TP y actividad con paper
De 14 a 17 hs (15/09)	Teórico Práctico Bioinformática		
		De 14 a 17 hs (03/11)	T. PRACTICO Nro 5
De 13 a 16 hs (19/09)	Teórico: Medina		
		De 13-16 hs (07/11)	Prueba diagnóstica cierre
De 14 a 17 hs (22/09)	Práctico Nro. 3. teórico Sosa Alderete		
		14 a 17 hs (10/11)	Consultas (Aula de química)
		13-16 hs 14/11	<b>Segundo Parcial</b>
De 13 a 16 hs (26/09)	Actividad con paper 1ra. parte		
		14 a 17 hs 17/11	Aula de química: Discusión TP
De 14 a 17 hs (29/10)	Práctico Nro 4		
		13-16 hs 22/11	<b>Recuperatorio segundo Parcial</b>