

NOMBRE: CULTIVO IN VITRO Y TRANSFORMACIÓN DE PLANTAS (I4)

PROFESOR RESPONSABLE: Fernando Pliego Alfaro (Universidad de Málaga)

PROFESORES PARTICIPANTES:

Mercado Carmona, Jose Angel (Universidad de Málaga)

Quesada Felice, Miguel Angel (Universidad de Málaga)

Barro Losada, Francisco (Instituto Agricultura Sostenible (CSIC, Córdoba)

Martín Muñoz, Antonio (Instituto Agricultura Sostenible (CSIC, Córdoba)

DESCRIPTORES: Cultivo *in vitro*, regeneración, organogénesis, embriogénesis somática, transformación genética, plantas transgénicas

OBJETIVOS DEL APRENDIZAJE

Este módulo tiene como objetivo que el alumno conozca los fundamentos de los procesos de regeneración en células vegetales, así como los principios básicos para la manipulación genética de plantas. La posibilidad de aislar y cultivar células, tejidos y órganos, sin los efectos de correlación de la planta madre, con perfecto control de las condiciones ambientales y de nutrición, ofrece unas enormes posibilidades en el campo de la investigación y tiene además una gran cantidad de aplicaciones prácticas. El alumno podrá conocer las bases fisiológicas bioquímicas y moleculares de las dos rutas de regeneración, a saber, la organogénesis adventicia y la embriogénesis somática. La transformación genética es hoy día una herramienta indispensable para los fisiólogos en el estudio de las funciones de los distintos genes en la vida de la planta. Desde un punto de vista aplicado, permite a los mejoradores elegir genes específicos, incorporando a la nueva planta sólo aquellos caracteres que son deseables. Las clases prácticas programadas permitirán al alumno familiarizarse con el cultivo de explantos de origen diverso que permitan la regeneración de plantas mediante las vías organogénica o embriogénica. Asimismo podrán adquirir los conocimientos necesarios para abordar la transformación de plantas mediante biobalística o por infección con *Agrobacterium tumefaciens*. Los alumnos deberán también llevar a cabo un trabajo dirigido en el que tendrán la oportunidad de abordar un proyecto específico que les ayude a desarrollar su actividad profesional mediante el análisis y la interpretación de datos de investigación.

Nº DE CREDITOS ECTS: 3

TIPO: Optativo (orientación investigadora)

SECUENCIA: 2º trimestre

CARÁCTER : Teórico-práctico

DESARROLLO: Presencial

BLOQUES TEMATICOS

Tema 1. RUTAS DE REGENERACIÓN: ORGANOGENESIS. Determinación y competencia morfogenética. Sistemas experimentales para estudiar el proceso. Citodiferenciación y ciclo celular. Polaridad celular. Comunicación intercelular. Organogénesis directa e indirecta. Sistemas experimentales. Aspectos fisiológicos, histológicos y moleculares del proceso.

Tema 2. RUTAS DE REGENERACIÓN: EMBRIOGENESIS SOMÁTICA. Definición. Ocurrencia *in vivo* e *in vitro*. Embriogénesis directa e indirecta. Aspectos fisiológicos, histológicos y moleculares del proceso.

Tema 3. VARIACIONES EN CULTIVO Y PLANTAS REGENERADAS. Variación espontánea *in vitro*. Bases de los cambios genéticos: Alteraciones en la planta madre y alteraciones que aparecen durante el cultivo. Uso de los variantes somaclonales en la mejora de plantas.

Tema 4. PRODUCCIÓN DE PLANTAS HAPLOIDES. Introducción. Cultivo de anteras y microsporas. Factores que afectan a la androgénesis. Ontogenia de haploides androgénicos. Regeneración de plantas a partir de embriones haploides. Ginogénesis. Diploidización. Aplicaciones prácticas. Producción de plantas dihaploides de trigo mediante cruzamiento con maíz.

Tema 5. TRANSFORMACIÓN GENÉTICA (I) Transferencia directa de genes. Electroporación de tejidos y protoplastos. Microfibrillas. Transformación por biobalística. Parámetros del sistema biobalístico. Ventajas e inconvenientes del sistema biobalístico. Desarrollo de un protocolo de transformación.

Tema 6. TRANSFORMACIÓN GENÉTICA (II) Transformación mediada por *Agrobacterium*. Mecanismos moleculares de la transferencia del T-DNA al genoma vegetal. Ventajas e inconvenientes del sistema de transformación por *Agrobacterium*. Desarrollo de un protocolo de transformación mediado por *Agrobacterium*.

Tema 7. TRANSFORMACIÓN GENÉTICA (III). Nuevas metodologías en transformación genética: eliminación de genes marcadores; transformación de cloroplastos; silenciamiento génico mediante RNAi. Aplicaciones agrícolas de la transformación: Maduración retardada de frutos, tolerancia a herbicidas, resistencia a insectos, virus y hongos. Otras aplicaciones.

BIBLIOGRAFÍA BASICA

Altman, A., Hasegawa, P.M. 2012. Plant Biotechnology and Agriculture. Prospects for the 21st century. Academic Press, London.

Beiquan, M., Scorza, R. 2011. Transgenic Horticultural Crops. Challenges and Opportunities. CRC Press, Boca ratón, Florida.

Birch, R.G. 1997. Plant transformation: problems and strategies for practical application. Ann Re. Plant Physiol. Plant Mol. Biol 48:297-326.

Bhojwani, S.S., Dantu, P. 2013. Plant Tissue Culture: An introductory text. Agritech Consultants. Shrub Oak, NY

Chawla, M.S. 2009. Introduction to Plant Biotechnology. 3^a ed. Science Publishers, Plymouth, U.K.

Duclercq, J., Sangwan-Norreel, B., Catterou, M., Sangwan, R.S. 2011. De novo shoot organogenesis: from art to science. Trends in Plant Science, 16:597-606

George, E.F., Hall, M.A., De Klerck, G.J. 2008. Plant Propagation by Tissue Culture. 3rd Edition. Springer Verlag.

Gordon, S.P., Heisler, M.G., Reddy, G.V., Ohno, C., Das, P., Meyerowitz, E.M. 2007. Pattern formation during the new assembly of the *Arabidopsis* shoot meristem. Development, 134: 3539-3548.

Jackson J.F., Linskens, H. F., 2003. Genetic Transformation of Plants: V. 23 (Molecular Methods of Plant Analysis). Springer-Verlag, Berlin.

Komori, T., Imayama, T., Kato, N., Ishida, Y., Ueki, J., Komari, T. 2007. Current status of binary vectors and superbinary vectors. Plant Physiol. 145:1155

Loyola-Vargas, V.M., Ochoa-Alejo, N. 2012. Plant Cell Culture Protocols. 3^o ed. Humana Press. New Jersey

Maliga, P. 2004. Plastid transformation in higher plants. Ann. Rev. Plant Mol.Biol. 55:289-313.

Meng, L., Zhang, S., Lemaux, P. 2010. Toward molecular understanding on *in vitro* and *in planta* shoot organogenesis. Critical Reviews in Plant Sciences, 29:108-122.

Mujib, A., Samaj, J. 2006. Somatic Embryogenesis. Plant Cell Monographs. Springer-Verlag.

Neelakandan, A.k., Wang, K. 2012. Recent progress in the understanding of tissue culture-induced genome level changes in plants and potential applications. Plant Cell Report: 31: 597-620

Poppy, G.M., Wilkinson, M.J. 2007. Gene Flow from GM Plants. Blackwell Publishing, Oxford.

Steward Jr., C.N., Touraev, A., Citovsky, V., Tzfira, T. 2012. Plant Transformation Technologies. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa.

Touraev, A., Foster, B.P., Jain, S.M. 2009. Advances in Haploid Production in Higher Plants. Agritech Consultants. Shrub Oak, NY.

Trigiano, R.N., Gray, D. 2011. Plant Tissue Culture, Development, and Biotechnology. CRC Press, London.

Tzfira T., Citovsky V. 2006. *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of plants: biology and biotechnology. Current Opinion Biotech. 17:147-154.

Yang, X., Zhang, X. 2010. Regulation of somatic embryogenesis in higher plants. Critical Reviews in Plant Science, 29:36-57.

Editorial especializada en Cultivo *in vitro* de Tejidos Vegetales: Agritech Consultants, Inc. PO Box 255. Shrub Oak, NY 10588, U.S.A. Phone/Fax: (914) 528-3469. E-mail: agritech@agritechpublications.com. Website: www.agritechpublications.com