

Embriogénesis Somática

Instructor: Dr. Víctor M. Loyola Vargas

I. Justificación

La biología vegetal moderna requiere de herramientas que permitan la regeneración y multiplicación de plantas, así como de modelos que permitan estudiar procesos como el de diferenciación celular de una forma más efectiva que la de los modelos que se encuentran en la naturaleza. La embriogénesis somática provee dichas herramientas. Por ello su estudio es un factor indispensable en la aplicación de las nuevas tecnologías biotecnológicas y en la generación de conocimiento sobre los procesos de diferenciación celular y desarrollo.

II. Ubicación de la materia

| | |
|-----------------------|--|
| Conocimientos previos | Biología celular, Anatomía vegetal, Cultivo de tejidos vegetales |
| Áreas de aplicación | Biotecnología, Bioquímica, Biología molecular |

III. Objetivo general

El objetivo general de este curso es el de que el alumno adquiera el conocimiento básico y las herramientas necesarias sobre el proceso de embriogénesis somática para que las aplique en la generación de nuevas biotecnologías o en la generación de nuevos modelos para el estudio de la diferenciación celular y el desarrollo.

IV. Metodología

El curso de embriogénesis somática constará de 48 horas, equivalentes a 3 créditos. Las sesiones serán tanto del tipo seminario para el análisis y discusión de artículos como del tipo conferencia.

V. Contenido programático

Introducción

1. Historia de la embriogénesis somática.

Objetivo específico

Que el alumno conozca los antecedentes que sentaron las bases del desarrollo de la embriogénesis somática.

Unidad I. Embriogénesis cigótica

1. Flor femenina.
2. Flor masculina.
3. Fecundación.
4. Desarrollo de las estructuras embrionarias.

Objetivo específico

Que el alumno conozca cómo se lleva a cabo la generación y el desarrollo de los embriones cigóticos. Así como que sea capaz de identificar anatómicamente todas las partes de un embrión cigótico.

Unidad II. Embriogénesis somática en la naturaleza

1. Plantas que producen embriogénesis somática en la naturaleza.
2. El género Kalanchoë.
- 3.

Objetivo específico

Que el alumno conozca que la embriogénesis somática es un proceso natural. Así como que sea capaz de identificar las condiciones que llevan a la producción de embriones de forma asexual.

Unidad III. Factores que intervienen en el establecimiento de la embriogénesis somática

1. La planta donadora.
 - a. Genotipo.
2. El explante
 - a. Cotiledones.
 - b. Hipocotilos.
 - c. Embriones cigóticos.
 - d. Ápices caulinares.
 - e. Segmentos de tallo.
 - f. Hojas.

- g. Raíces.
 - h. Inflorescencias inmaduras.
 - i. Nucelas aisladas.
 - j. Endospermo.
 - k. Anteras.
3. Pretratamientos.
 - a. Fotoperiodo
 - b. Presencia de reguladores del crecimiento.
 4. Reguladores del crecimiento
 - a. Auxinas.
 - b. Citocininas.
 - c. Ácido abscísico.
 - d. Ácido giberélico.
 - e. Etileno.
 - f. Ácido salicílico.
 - g. Poliaminas.
 - h. Brasinoesteroides.
 5. El medio de cultivo
 - a. La fuente de nitrógeno.
 - b. Los macronutrientes.
 - c. La fuente de carbono.
 - d. El gelificante.
 6. Otras adiciones
 7. El medio ambiente
 - a. Densidad del inóculo.
 - b. Iluminación.
 - c. Temperatura.
 - d. Choque térmico.
 - e. Contenedores.
 - f. Agitación.
 - g. Aeración

Objetivos específicos

Que el alumno conozca los diferentes factores que intervienen en el establecimiento exitoso de cultivos embriogénicos, aprenda cómo establecer un sistema embriogénico y sea capaz de diseñar experimentos para caracterizarlos y generar modelos para el estudio del proceso embriogénico, así como para diversas aplicaciones.

Unidad IV. Embriogénesis somática

1. Eventos tempranos en la embriogénesis somática.
2. Aspectos morfogénicos de la embriogénesis somática.
3. Patrones estructurales y de desarrollo durante la embriogénesis somática.
4. Aspectos fisiológicos de la embriogénesis somática.

5. Aspectos bioquímicos de la embriogénesis somática.
 - a. Sincronización.
 - b. Proteómica de la inducción de la embriogénesis somática.
 - c. Enzimas que se inducen o activan durante la inducción de la embriogénesis somática.
6. Aspectos moleculares de la embriogénesis somática.
 - a. Genes que se expresan durante la inducción de la embriogénesis somática.
 - b. Metilación del ADN.
 - c. Modificación de las histonas.

Objetivos específicos

Que el alumno conozca los factores que inducen la diferenciación celular por la vía embriogénica y de los factores que regulan su expresión.

Unidad V. Aplicaciones de la embriogénesis somática

1. Criopreservación de embriones somáticos.
2. Escalamiento del proceso de embriogénesis somática.
 - a. Biorreactores.
 - b. Ritas.
 - c. Otros sistemas de propagación masiva.
3. Aplicaciones de la embriogénesis somática.
 - a. Propagación masiva.
 - b. Transformación genética.
 - c. Producción de semilla artificial.

Objetivos específicos

Que el alumno conozca las posibles aplicaciones prácticas de la embriogénesis somática y que desarrolle habilidades que le permitan emplear esta metodología para desarrollar nuevas aplicaciones.

Actividades de aprendizaje

Revisión y discusión de los artículos en los que se describen los antecedentes que llevaron al descubrimiento de la embriogénesis somática.

Análisis de las diferentes técnicas para la generación de cultivos embriogénicos y diseño de experimentos para la obtención de células embriogénicas.

Análisis de los factores que afectan el desarrollo de los embriones somáticos, con el fin de entender los mecanismos que regulan su comportamiento en el tubo de ensaye.

Aplicación de las metodologías que se utilizan actualmente para la producción masiva de plantas, mediante la embriogénesis somática.

Criterios y procedimientos de evaluación y acreditación

El alumno será evaluado de acuerdo con los siguientes parámetros:

- ◆ La calificación para acreditar el curso será de 80 puntos.
- ◆ Para tener derecho a acreditar el curso es requisito el entregar todos los trabajos oportunamente.

| ACTIVIDAD | PORCENTAJE |
|---|------------|
| 2 exámenes parciales | 60 |
| Investigación bibliográfica, discusión y moderación de un tema por alumno | 40 |
| O su participación en la elaboración de un artículo de revisión | 100 |

Bibliografía

La bibliografía para un tema como el de este curso debe ser dinámica, por ello la bibliografía que se enlista a continuación cambiará conforme se vaya generando nueva información.

Libros

Bajaj Y. P. S., *Biotechnology in agriculture and forestry*, vol. 31. Somatic embryogenesis and synthesis seed II, Springer-Verlag, Berlin, pp 1-444, (1995).

Bajaj Y. P. S., *Biotechnology in agriculture and forestry*, vol. 30. Somatic embryogenesis and synthetic seed I, Springer-Verlag, Berlin, pp 1-471, (1995).

Bock G. y J. Marsh, *Applications of plant cell and tissue culture*, John Wiley & Sons, Chichester, pp 1-267, (1988).

Erosa L. C. C., *Embryogenesis in Angiosperms: A Developmental and Experimental Study*, Cambridge University Press, Cambridge, (1986).

Jain S. M., P. K. Gupta y R. J. Newton, *Somatic embryogenesis in woody plants Vol. 2. Angiosperms*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Holanda, pp 1-509, (1995).

Jain S. M., P. K. Gupta y R. J. Newton, *Somatic embryogenesis in woody plants. Vol 1 History, molecular and biochemical aspects, and applications*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 1-460, (1995).

Redenbaugh K., *Synseeds. Applications of synthetic seeds to crop improvement*, CRC Press, Boca Ratón, pp 1-481, (1992).

Thorpe T. A., In vitro embryogenesis in plants, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp 1-558, (1995).

Raghavan V., Experimental embryogenesis in vascular plants, Academic Press, London, pp 1-603, (1976).

Muestra de artículos de revisión (2006-2011)

Eckardt N. A., Genetic and epigenetic regulation of embryogenesis, *Plant Cell*, 18: 781-784, (2006).

Fehér A., Why somatic plant cells start to form embryos?, en: *Somatic embryogenesis*, (Mujib A. y J. Samaj, eds.), Springer, Berlin, Heidelberg, 85-101, (2006).

Hoshino T. y J. Cuello, Environmental design considerations for somatic embryogenesis, en: *Somatic embryogenesis*, (Mujib A. y J. Samaj, eds.), Springer, Berlin, Heidelberg, 25-34, (2006).

Igasaki T., N. Akashi y K. Shinohara, Somatic embryogenesis in *Cryptomeria japonica* D. Don: gene for phyto-sulfokine (PSK) precursor, en: *Somatic embryogenesis*, (Mujib A. y J. Samaj, eds.), Springer, Berlin, Heidelberg, 201-213, (2006).

Ikeda M. y H. Kamada, Comparison of molecular mechanisms of somatic and zygotic embryogenesis, en: *Somatic embryogenesis*, (Mujib A. y J. Samaj, eds.), Springer, Berlin, Heidelberg, 51-68, (2006).

Jiménez V. M. y C. Thomas, Participation of plant hormones in determination and progression of somatic embryogenesis, en: *Somatic embryogenesis*, (Mujib A. y J. Samaj, eds.), Springer, Berlin, Heidelberg, 103-118, (2006).

Matsubayashi Y. y Y. Sakagami, Peptide hormones in plants, *Annu. Rev. Plant Biol.*, 57: 649-674, (2006).

Mujib A., S. Banerjee y P. Ghosh, Origin, development and structure of somatic embryos in selected bulbous ornamentals: BAP as inducer, en: *Somatic embryogenesis*, (Mujib A. y J. Samaj, eds.), Springer, Berlin Heidelberg, 15-24, (2006).

Quiroz-Figueroa F. R., R. Rojas-Herrera, R. M. Galaz-Avalos y V. M. Loyola-Vargas, Embryo production through somatic embryogenesis can be used to study cell differentiation in plants, *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 86: 285-301, (2006).

Samaj J., M. Bobák, A. Blehová y A. Pret'ová, Importance of cytoskeleton and cell wall in somatic embryogenesis, en: *Somatic embryogenesis*, (Mujib A. y J. Samaj, eds.), Springer, Berlin, Heidelberg, 35-50, (2006).

Suprasanna P. y V. A. Bapat, Differential gene expression during somatic embryogenesis, en: *Somatic embryogenesis*, (Mujib A. y J. Samaj, eds.), Springer, Berlin, Heidelberg, 305-320, (2006).

Tang W. y R. J. Newton, Genome-wide expression analysis of genes involved in somatic embryogenesis, en: *Somatic embryogenesis*, (Mujib A. y J. Samaj, eds.), Springer, Berlin, Heidelberg, 69-83, (2006).

Tchorbadjieva M. I., Protein markers for somatic embryogenesis, en: *Somatic embryogenesis*, (Mujib A. y J. Samaj, eds.), Springer, Berlin, Heidelberg, 215-233, (2006).

Thomas C. y V. M. Jiménez, Mode of action of plant hormones and plant growth regulators during induction of somatic embryogenesis: molecular aspects, en: *Somatic embryogenesis*, (Mujib A. y J. Samaj, eds.), Springer, Berlin, Heidelberg, 157-175, (2006).

Santana-Buzzy N., R. Rojas-Herrera, R. M. Galaz-Avalos, J. R. Ku-Cauich, J. Mijangos y V. M. Loyola-Vargas, Coffee, en: *Transgenic crops V*, (Pua E. C. y M. R. Davey, eds.), Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 475-495, (2007).

Arnold S. y D. Clapham, Spruce embryogenesis, en: *Plant embryogenesis*, (Suárez M. F. y P. V. Bozhkov, eds.), Humana Press, Totowa, 31-47, (2008).

Fehér A., The initiation phase of somatic embryogenesis: what we know and what we don't, *Acta Biologica Szegediensis*, 52: 53-56, (2008).

Fontanet P. y C. M. Vicient, Maize embryogenesis, en: *Plant embryogenesis*, (Suárez M. F. y P. V. Bozhkov, eds.), Humana Press, Totowa, 17-29, (2008).

Park S. y J. J. Harada, Arabidopsis embryogenesis, en: *Plant embryogenesis*, (Suárez M. F. y P. V. Bozhkov, eds.), Humana Press, Totowa, 3-16, (2008).

Smertenko A. P. y P. J. Hussey, Immunolocalization of proteins in somatic embryos: applications for studies on the cytoskeleton, en: *Plant embryogenesis*, (Suárez M. F. y P. V. Bozhkov, eds.), Humana Press, Totowa, 157-171, (2008).

Karami O., B. Aghavaisi y A. M. Pour, Molecular aspects of somatic-to-embryogenic transition in plants, *J. Chem. Biol.*, 2: 177-190, (2009).

Yang X. y X. Zhang, Regulation of somatic embryogenesis in higher plants, *Crit. Rev. Plant Sci.*, 29: 36-57, (2010).

Zavattieri M. A., A. M. Frederico, M. Lima, R. Sabino y B. Arnholdt-Schmitt, Induction of somatic embryogenesis as an example of stress-related plant reactions, *Elect. J. Biotechnol.*, 13: (2010).

Artículos de ES en la naturaleza

Garces H. M., C. E. Champagne, B. T. Townsley, S. Park, R. Malho, M. C. Pedroso, J. J. Harada y N. R. Sinha, Evolution of asexual reproduction in leaves of the genus *Kalanchoe*, *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 104(39): 15578-15583, (2007). DOI: 10.1073/pnas.0704105104.

Garces H. y N. Sinha, The 'mother of thousands' (*Kalanchoë daigremontiana*): A plant model for asexual reproduction and CAM studies, *Cold Spring Harbor Protocols*, 2009(10): (2009). DOI: 10.1101/pdb.emo133.

Garces H. M. P., D. Koenig, B. T. Townsley, M. Kim y N. R. Sinha, Truncation of LEAFY COTYLEDON1 protein is required for asexual reproduction in *Kalanchoë daigremontiana*, *Plant Physiol.*, 165(1): 196-206, (2014). DOI: 10.1104/pp.114.237222.

González-Hernández J., M. Rodríguez-Domínguez y B. Rodríguez-Garay, *Kalanchoë daigremontiana* as a model plant for the study of auxin effects in plant morphology, *J. Plant Biochem. Physiol.*, 21, (2014). DOI: <http://dx.doi.org/10.4172/2329-9029.1000e120>.

Zhong T., C. Zhu, H. Zeng y L. Han, Analysis of gene expression in *Kalanchoë daigremontiana* leaves during plantlet formation under drought stress, *Elect. J. Biotechnol.*, 16(6): (2013). DOI: 10.2225/vol16-issue6-fulltext-14.

Muestra de artículos de revisión (2012-2014)

Elhiti M., C. Stasolla y A. Wang, Molecular regulation of plant somatic embryogenesis, *In Vitro Cell. Dev. Biol. -Plant*, 49(6): 631-642, (2013). DOI: 10.1007/s11627-013-9547-3.

- Fehér A., Somatic embryogenesis - Stress-induced remodeling of plant cell fate, *BBA-Gene Regul. Mech.*, (2014). DOI: 10.1016/j.bbagr.2014.07.005. (En prensa).
- Fujimura T., Carrot somatic embryogenesis. A dream come true?, *Plant Biotechnol. Rep.*, 8(1): 23-28, (2014). DOI: 10.1007/s11816-013-0295-y.
- Gutiérrez-Mora A., A. G. González-Gutiérrez, B. Rodríguez-Garay, A. Ascencio-Cabral y L. Li-Wei, Plant somatic embryogenesis: some useful considerations, en: *Embryogenesis*, (Sato K., ed.), InTech, Rijeka, Croatia, 230-248, (2012).
- Kahrizi D. y M. Mirzaei, Induced androgenic embryogenesis in cereals, en: *Embryogenesis*, (Sato K., ed.), InTech, Rijeka, Croatia, 297-306, (2012).
- Kurczynska E. U., I. Potocka, I. Dobrowolska, K. Kulinska-Lukaszek, K. Sala y J. Wrobel, Cellular markers for somatic embryogenesis, en: *Embryogenesis*, (Sato K., ed.), InTech, 307-332, (2012).
- Neelakandan A. y K. Wang, Recent progress in the understanding of tissue culture-induced genome level changes in plants and potential applications, *Plant Cell Rep.*, 31(4): 597-620, (2012). DOI: 10.1007/s00299-011-1202-z.
- Santos C., Somatic embryogenesis and cryopreservation in forest species: the cork oak case study, en: *Current Frontiers in Cryopreservation*, (Katkov I., ed.), InTech, Rijeka, Croatia, 398-414, (2012).
- Silva T. D., Microspore embryogenesis, en: *Embryogenesis*, (Sato K., ed.), InTech, Rijeka, Croatia, 573-596, (2012).
- Smertenko A. y P. V. Bozhkov, Somatic embryogenesis: life and death processes during apical-basal patterning, *J. Exp. Bot.*, 65(5): 1343-1360, (2014). DOI: 10.1093/jxb/eru005.
- Solis-Ramos L. Y., A. Andrade-Torres, L. A. Sáenz-Carbonell, C. Oropeza-Salín y E. Castaño de la Serna, Somatic embryogenesis in recalcitrant plants, en: *Embryogenesis*, (Sato K., ed.), InTech, Rijeka, Croatia, 597-618, (2012).

Artículos históricos

- Guha S. y S. C. Maheshwari, *In vitro* production of embryos from anthers of *Datura*, *Nature*, 204: 497, (1964).
- Halperin W., *In vitro* embryogenesis: some historical issues and unresolved problems, en: *In vitro embryogenesis in plants*, (Thorpe T. A., ed.), Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 1-16, (1995).
- Krikorian A. D. y L. K. Simola, Totipotency, somatic embryogenesis, and Harry Waris (1893-1973), *Physiol. Plant.*, 105: 348-355, (1999).
- Reinert J., Uber die kontrolle der morphogenese und die induktion von adventivembryonen an gewebeulturen aus karotten, *Planta*, 53: 318-333, (1959).
- Steward F. C., M. O. Mapes, A. E. Kent y R. D. Holsten, Growth and development of cultured plant cells, *Science*, 143: 20-27, (1964).
- Steward F. C., M. O. Mapes y K. Mears, Growth and organized development of cultured cells. II. Organization in cultures grown from freely suspended cells, *Am. J. Bot.*, 45: 705-708, (1958).