



VNIVERSIDAD
DSALAMANCA

Memoria de actividades del proyecto de innovación docente

iPLANT II: Consolidación del Laboratorio virtual de Fisiología y Fitopatología Molecular de Plantas.

Ref. ID10/081

Realizado por:

Profesor responsable: Oscar Lorenzo Sánchez
Miembros del equipo: Luis Sanz Andreu
María Fernández Marcos
Alejandro Fernández Arbaizar
Abelardo Modrego Ruiz
Pablo Albertos Arranz
Daniel Osuna Jiménez
Ángel Poveda Polo

Salamanca, 28 de Junio de 2011

Departamento de Fisiología Vegetal-CIALE
Universidad de Salamanca

Resumen:

Este proyecto docente ha servido para la documentación en video y edición de varios protocolos básicos de utilidad en un laboratorio de Fisiología Vegetal y Fitopatología Molecular, que comprenden: técnicas de laboratorio con plantas modelo, protocolos de transformación estable y transitoria de plantas, obtención de mutantes y plantas transgénicas, análisis de genes reportadores, interacción proteína-proteína por doble híbrido y complementación bimolecular fluorescente (BiFC) *in vivo* y finalmente distintos protocolos transcriptómicos. Además se han seleccionado, digitalizado e integrado en una base de datos, imágenes de plantas modelo de experimentación como *Arabidopsis* y tomate en distintas etapas del desarrollo vegetal, imágenes de microscopía óptica y confocal descritas acorde con los objetivos de las distintas asignaturas a las que está orientado el laboratorio virtual.

Parte de este material básico, junto con una selección de documentos externos (páginas web, revistas electrónicas, animaciones, videos técnicos y conferencias) se ha utilizado en el presente curso en las distintas asignaturas de las licenciaturas de Biología y Biotecnología. El conjunto de los recursos está siendo adaptado a formatos de aprendizaje secuencial tutelado y evaluable que se ha integrado en la plataforma **Studium** de la Universidad de Salamanca y ha estará plenamente operativo en el segundo cuatrimestre del curso académico 2010-2011. Del mismo modo, parte del material generado ha sido empleado en la construcción de las páginas web del Máster en Agrobiotecnología y del Centro Hispano-Luso de Investigaciones Agrarias (CIALE), así como en los folletos divulgativos del citado Máster.

Introducción:

Los análisis fisiológicos y moleculares en plantas son herramientas imprescindibles para el conocimiento y la comprensión de la función de los vegetales y forman parte de los recursos básicos de todo docente del área de Fisiología Vegetal. Los sistemas docentes tradicionales permiten al alumno un somero conocimiento teórico de las técnicas fisiológicas y moleculares básicas y un manejo práctico de las mismas casi testimonial, mientras que el acceso a unas prácticas actualizadas donde se tengan en cuenta los últimos avances en este campo (mutantes, transgénicas, genes reportadores...) en la programación docente, es muy limitado. Por otra parte, las limitaciones temporales de los estudiantes para poder observar un proceso de crecimiento y desarrollo vegetal o de respuesta a estrés en su totalidad a lo largo del ciclo de vida de la planta, dificultan el aprendizaje del proceder fisiológico.

La buena acogida entre los estudiantes de la innovación práctica llevada a cabo recientemente en las asignaturas de Fisiología Vegetal y Fitopatología Molecular guiadas y generadas por ordenador y empleadas por miembros de este equipo y sus excelentes resultados en el aprendizaje, nos llevaron a plantear la necesidad de diseñar un laboratorio virtual de fisiología y biología molecular de plantas, donde nuestros estudiantes puedan aprender a obtener y procesar adecuadamente material vegetal, elegir la(s) técnica(s) más adecuada(s) para un objetivo concreto y aplicar de forma correcta el protocolo correspondiente, para, una vez obtenido el material vegetal, ejercitarse en el diagnóstico fisiológico y molecular, comparando éste con material vegetal

virtual propio con enlaces a reconocidas bases de datos de diversas fuentes (Universidades, Instituciones...).

Objetivo del proyecto:

El objetivo general de este proyecto consiste en consolidar una herramienta informática que, al tiempo que cumple las funciones de simulador de procesos fisiológicos y moleculares, (desde la obtención de mutantes y plantas transgénicas hasta herramientas moleculares y protocolos genéticos, genómicos y proteómicos), cumpla también funciones de referencia virtual y guía de diagnóstico fisiológico y molecular. El diseño de la aplicación está asociado a la autoevaluación de cada parte del proceso y exige la demostración de conocimientos y destrezas mínimos para avanzar en la aplicación. Este laboratorio virtual de fisiología y biología molecular de plantas está facilitando el aprendizaje y la comprensión de los procesos de crecimiento y desarrollo vegetal o de respuesta a estrés, tanto biótico como abiótico, al tiempo que permite al profesorado un seguimiento pormenorizado de los progresos o dificultades en el aprendizaje de cada estudiante y de cada grupo o curso en conjunto.

Justificación:

Cada año, el profesor que redacta esta memoria atiende a más de 100 alumnos, de 1^{er} y 2^o ciclo, en asignaturas en las que el estudio de los aspectos fisiológicos y moleculares del vegetal son esenciales, así como una parte importante de los contenidos prácticos.

Las restricciones temporales de los estudiantes para la experimentación vegetal limitan su participación en la obtención de muestras a la de meros espectadores pasivos; en cuanto a los procesos fisiológicos y moleculares, si bien el conjunto de prácticas de las distintas asignaturas cubren las necesidades conceptuales mínimas, el obligatoriamente corto acceso a los laboratorios y el ciclo de vida del vegetal (aunque en la mayoría de nuestros proyectos de investigación se utilizan especies modelo como *Arabidopsis thaliana*, el tiempo estimado desde la germinación de una semilla hasta la obtención de frutos supera los dos meses), limita la experiencia práctica de nuestros estudiantes y no asegura la adecuada comprensión ni la correcta utilización de las diferentes metodologías. En cuanto al análisis fisiológico y molecular, las prácticas de observación y experimentación programadas sólo permiten un somero atisbo de los principales procesos de crecimiento y desarrollo del vegetal y son del todo insuficientes para asentar los conceptos indispensables y la experiencia de observación mínima para interpretar adecuadamente un proceso de desarrollo vegetal o evaluar las respuestas de las plantas a un estrés determinado, tanto de tipo abiótico (sequía, salinidad, frío...) como biótico (ataque por patógenos, insectos, heridas...). Este aspecto se solventa parcialmente mediante recursos informáticos propios que incluyen enlaces con imágenes de plantas online; pero carecen de tutela académica, de control del rendimiento y no son evaluables directamente.

Por otra parte, el coste económico para la realización de cualquiera de estas prácticas por parte de cada alumno, supera ampliamente la dotación disponible para tal fin, especialmente en asignaturas optativas, en las que no

se contempla una dotación especial para las prácticas de laboratorio.

El diseño de la aplicación ha de estar asociado a la demostración de conocimientos y destrezas que permitan al profesorado un seguimiento pormenorizado de los progresos y de las dificultades en el aprendizaje de cada estudiante y de cada grupo o curso en conjunto.

Actividades realizadas:

Las actividades desarrolladas en relación a este proyecto, así como los resultados obtenidos se considerarán en distintos apartados:

- 1) Documentación gráfica de protocolos experimentales.
- 2) Digitalización de imágenes con plantas modelo de experimentación.
- 3) Selección de material externo.
- 4) Ensayos docentes en la plataforma **Studium** e integración en páginas web.
- 5) Montaje del laboratorio virtual.

1) Documentación gráfica de protocolos experimentales.

Hemos realizado grabaciones en vídeo digital de los protocolos habituales en nuestro laboratorio, realizando al menos tres grabaciones de cada procedimiento experimental y hasta el momento disponemos de varios videos editados como el ejemplo que se muestra en la Figura 1.

**Transformación transitoria de material vegetal mediante Biobalística.
Dpto. Fisiología Vegetal-CIALE**

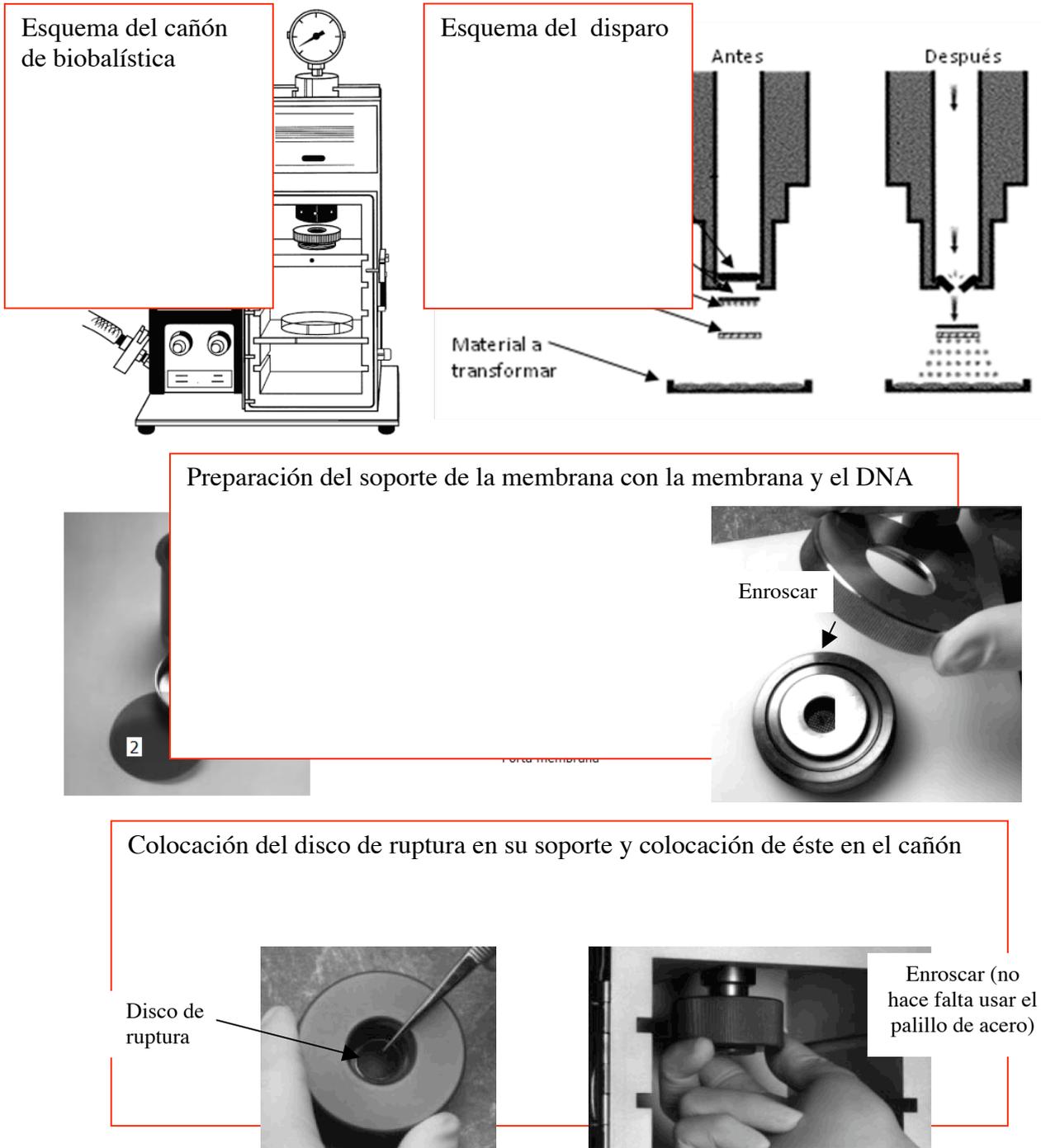


Figura 1.- Ejemplo de documentación digital de protocolos de transformación estable y transitoria de plantas mediante biobalística.

2) Digitalización de imágenes con plantas modelo de experimentación.

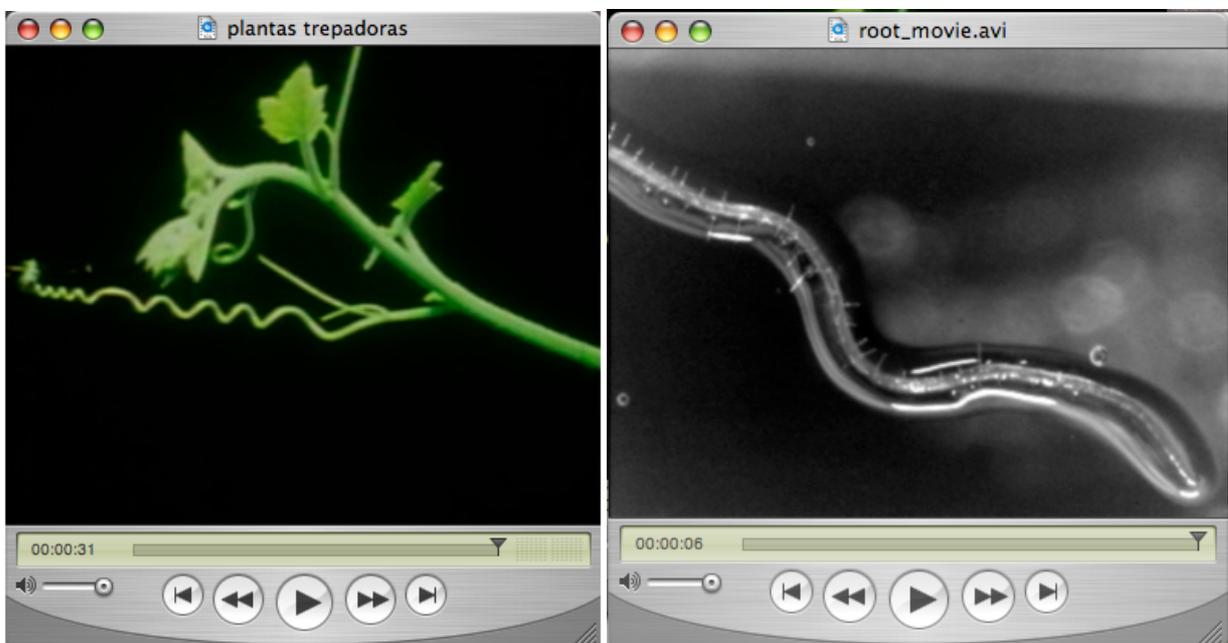
Del mismo modo, se han realizado imágenes digitales de diversas plantas modelo habituales en nuestro laboratorio, como los ejemplos que se muestran en la Figura 2.



Figura 2.- Ejemplo de documentación digital de técnicas de laboratorio con plantas modelo de experimentación (Arabidopsis, izda. y señalización de heridas en plantas de patata, drcha.).

3) Selección de material externo.

Si bien la base de la herramienta didáctica que estamos construyendo ha de ser material propio, creemos necesario utilizar material complementario externo procedente de diversas fuentes con objetivos comunes a los de este proyecto. En este sentido, hemos realizado una primera selección de material externo que será utilizado como material complementario como el que destacamos en la Figura 3:



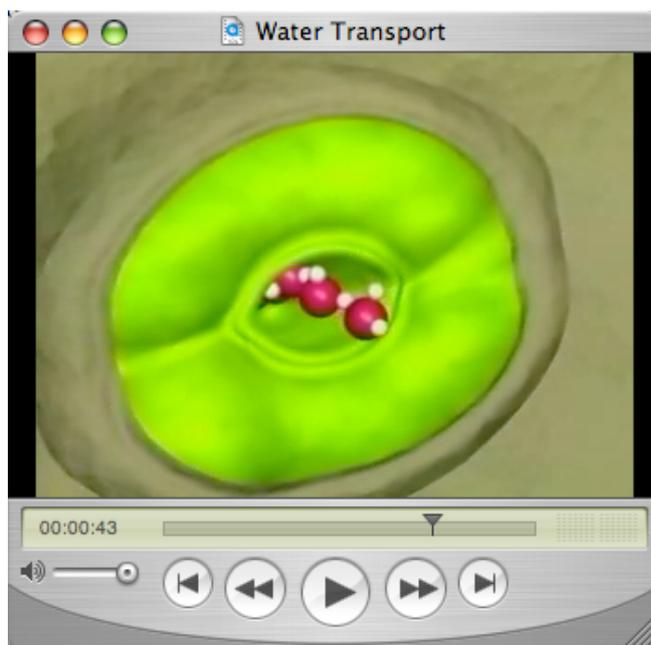


Figura 3.- Ejemplo de selección y digitalización de imágenes de fuentes bibliográficas y de bases de datos de acceso libre.

4) Ensayos docentes en la plataforma *Studium* e integración en páginas web

Durante el curso académico que ahora concluye hemos utilizado la plataforma Studium en las asignaturas Fisiología Vegetal (Licenciaturas de Biología, <https://moodle.usal.es/course/view.php?id=1583> Figura 4), y Fitopatología Molecular (Licenciatura de Biotecnología, <https://moodle.usal.es/course/view.php?id=1578> Figura 5), para la puesta a punto de los materiales que íbamos elaborando.

Utilizamos la actualización de ambas páginas como medio para testar la potencialidad didáctica de imágenes y esquemas básicos.

Del mismo modo, parte del material generado ha sido empleado en la construcción de las páginas web del Máster en Agrobiotecnología (<http://agrobiotecnologia.usal.es>) y del Centro Hispano-Luso de Investigaciones Agrarias (CIALE, <http://ciale.usal.es>), así como en los folletos divulgativos del citado Máster.

STUDIVM CAMPUS VIRTUAL

Usted se ha autenticado como ÓSCAR LORENZO SÁNCHEZ (Salir)

Contacto
+34 923 294746
@ studium@usal.es

studium > 16712 FV-A

Cambiar rol a... Activar edición

Personas
Participantes

Actividades
Foros
Recursos

Buscar en los foros
Búsqueda avanzada

Administración
Activar edición
Configuración
Asignar roles
Grupos UXXI
C. Extraordinarios
Calificaciones
Resultados
Grupos
Copia de seguridad
Restaurar
Importar
Reiniciar
Informes
Preguntas
Archivos
Eliminar curso
Perfil

Facultad de Biología

FISIOLÓGÍA VEGETAL

Novedades
Inscripción
Programa Simposio

1 **III.-FOTOSÍNTESIS.**
Tema 1.- REDUCCIÓN ASIMILADORA DEL NITRATO.
Fotocopias Fotosíntesis

2 **Tema 2.- REDUCCIÓN ASIMILADORA DEL SULFATO.**
Fotocopias Fotosíntesis

3 **IV.- RESPIRACIÓN.**
Tema 1. RESPIRACIÓN Y MITOCONDRIAS VEGETALES
Tema 2. RESPIRACIÓN: TRANSPORTE DE ELECTRONES Y FOSFORILACIÓN
Fotocopias Respiración

4 **V.- CRECIMIENTO Y DESARROLLO.**
Tema 1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL CRECIMIENTO
Fotocopias Tema 1

5 **Tema 2. AUXINAS**
Fotocopias Tema 2

6 **Tema 3. GIBERELINAS**
Fotocopias Tema 3

7 **Tema 4. CITOQUININAS**
Fotocopias Tema 4

8 **Tema 5. ETILENO**
Fotocopias Tema 5

9 **Tema 6. ÁCIDO ABCÍSICO**
Fotocopias Tema 6

10 **Tema 7. OTROS REGULADORES DEL CRECIMIENTO**
Fotocopias Tema 7

11 **Tema 8. DIFERENCIACIÓN**
Fotocopias Tema 8-9

12 **Tema 9. MORFOGÉNESIS**
Fotocopias Tema 8-9

13 **Seminarios**

Crosstalk: Interacciones hormonales
Dormición-Germinación (I)
Dormición-Germinación (II)
Dormición-Germinación (III)
Dormición (I)
Salida Dormición (II)
Germinación (III)
Plantas medicinales

Novedades
Agregar un nuevo tema...
3 de feb, 15:52
ÓSCAR LORENZO SÁNCHEZ
Noticias y anuncios más...
Temas antiguos ...

Eventos próximos
No hay eventos próximos
Ir al calendario...
Nuevo evento...

Actividad reciente
Actividad desde miércoles,
26 de mayo de 2010, 16:51
Informe completo de la
actividad reciente...
Sin novedades desde el
último acceso

Figura 4.- Integración en la plataforma Studium de los contenidos correspondientes a la asignatura de Fisiología Vegetal (Licenciatura en Biología).

The screenshot displays the Studium virtual campus interface for the Faculty of Biology. The main content area is titled "FITOPATOLOGÍA MOLECULAR" and lists 11 topics, each with associated resources like photocopies and presentations. The interface includes a navigation menu on the left, a top header with contact information, and a right sidebar with news and events.

Personas
Participantes

Actividades
Foros
Recursos

Buscar en los foros
Búsqueda avanzada

Administración
Activar edición
Configuración
Asignar roles
Grupos UXXI
C. Extraordinarios
Calificaciones
Resultados
Grupos
Copia de seguridad
Restaurar
Importar
Reiniciar
Informes
Preguntas
Archivos
Eliminar curso
Perfil

Facultad de Biología

FITOPATOLOGÍA MOLECULAR

1 Tema 1.- Introducción al estudio de las interacciones moleculares entre planta-patógeno.
Fotocopias Tema 1

2 Tema 2.- Arabidopsis como sistema modelo. Aproximaciones experimentales.
Fotocopias Tema 2

3 Tema 3.- Mecanismos de ataque por agentes fitopatógenos: virus (y viroides), bacterias, hongos y nematodos.
Fotocopias Tema 3-4 BacteriasI
Fotocopias Tema 3-4 Virus y Viroides

4 Tema 4.- Reconocimiento específico planta-patógeno. Inmunidad innata: "host" y "non-host".
Fotocopias Tema 3-4 BacteriasII
Presentación Efectores Tipo III
Fotocopias Tema 3-4 Oomicetos
Fotocopias Tema 3-4 Hongos

5 Tema 5.- Mecanismos generales de defensa de las plantas frente a patógenos.

6 Tema 6.- Síntesis de las moléculas señaladoras: ácido salicílico (SA), ácido jasmónico (JA) y etileno (ET).
Fotocopias Tema 6-7 JAs
Fotocopias Tema 6-7 ET

7 Tema 7.- Rutas de transducción de señales en la respuesta de defensa de la planta.
Fotocopias Tema 6-7 SA
Fotocopias Tema 6-7 ABA

8 Tema 8.- Interacciones entre rutas de transducción de señales (crosstalk positivo y negativo).
Fotocopias Tema 8 ERF1

9 Tema 9.- Función de los productos finales en la relación planta-patógeno.

10 Tema 10.- Aplicación de la Biotecnología Vegetal y mejora clásica de la resistencia a enfermedades.

11 Seminarios
Producción de vacunas en plantas
Interacción planta-nematodo
Plantas transgénicas
Fitoplasmas
Plantas parásitas
Trichoderma: agente de biocontrol
Patógenos de interés agrícola y/o biotecnológico

Novedades
Agregar un nuevo tema...
11 de may, 11:56
ÓSCAR LORENZO SÁNCHEZ
Notas más...
28 de abr, 13:13
ÓSCAR LORENZO SÁNCHEZ
Salida Visita al CNB (Madrid)
8,00 horas más...
28 de abr, 12:51
ÓSCAR LORENZO SÁNCHEZ
Visita al CNB (Madrid) y
Fotografías practicas más...
28 de abr, 12:49
ÓSCAR LORENZO SÁNCHEZ
Visita al CNB (Madrid) y
Fotografías practicas más...
4 de abr, 17:31
ÓSCAR LORENZO SÁNCHEZ
Prácticas de laboratorio,
Seminarios y Exámen más...
Temas antiguos ...

Eventos próximos
No hay eventos próximos
Ir al calendario...
Nuevo evento...

Actividad reciente
Actividad desde miércoles,
26 de mayo de 2010, 16:55
Informe completo de la
actividad reciente...
Sin novedades desde el
último acceso

Usted se ha autenticado como ÓSCAR LORENZO SÁNCHEZ (Salir)

Figura 5.- Integración en la plataforma Studium de los contenidos correspondientes a la asignatura de Fitopatología Molecular (Licenciatura en Biotecnología).

5) Montaje del laboratorio virtual.

Las pruebas con parte del material elaborado demuestran que incluso en herramientas no específicas para su uso, como la simple integración de documentos aislados, simplifica y mejora notablemente el aprendizaje de los alumnos en todos y cada uno de los niveles y asignaturas. Esto sugiere que la programada integración en una herramienta única puede ser muy eficiente para la docencia y más *amigable* para el aprendizaje. Con este objetivo, desde enero de este año, estamos montando un programa específico, que será el resultado final de este proyecto, que, aún integrado en un servidor externo (Facultad de Biología) será accesible y estará integrado en la plataforma **Studium**.

Como ejemplo de diseño de supuestos prácticos basados en el material obtenido en los apartados anteriores y elaboración de los test de evaluación adecuados a cada supuesto práctico en su conjunto y a cada una de las etapas básicas del mismo mostramos el integrado en la asignatura de Fitopatología Molecular para estudiar la interacción de la Figura 6.

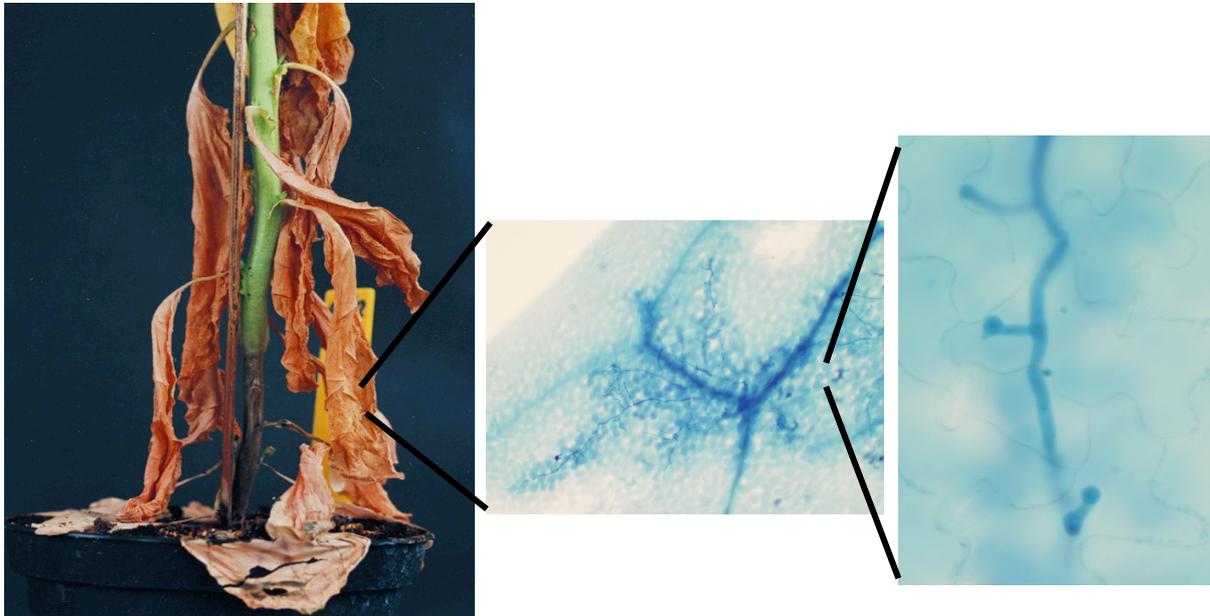


Figura 6.- Ejemplo de diseño de supuesto práctico utilizado para la elaboración del test de evaluación en la asignatura de Fitopatología Molecular para estudiar la interacción planta-patógeno de la figura.

Principales conclusiones:

Las prácticas fisiológicas y moleculares con organismos vivos, en este caso plantas **reales**, son imprescindibles e insustituibles en la formación de Licenciados o Graduados en Biología, Bioquímica y Biotecnología, titulaciones en las que están implicados los solicitantes de este proyecto. Con este proyecto se aseguran, refuerzan y amplían los conocimientos y la experiencia en la práctica fisiológica y molecular vegetal de manera cómoda para el estudiante, por permitirle gestionar los tiempos de utilización y el ritmo de aprendizaje, al tiempo que le permite aprender, mediante simulación tutelada, aspectos imprescindibles en la formación agrobiotecnológica, pero imposibles de realizar actualmente en nuestra Universidad, además de acceder a herramientas moleculares, hasta ahora infrautilizadas, como a bases de datos de garantía. Y todo ello en un sistema tutelado y sometido a evaluación, tanto por el propio estudiante como por su(s) profesor(es).

Esta herramienta de aprendizaje es supervisada por el profesorado, permitiendo adaptarla a los adecuados niveles conceptuales y destrezas de cada asignatura, estableciendo en cada caso límites mínimos, pero no máximos. Esto permite que el sistema sea único, pero flexible, evaluando en función de los objetivos de cada asignatura, pero permitiendo la práctica, la observación y la adquisición de conocimientos y destrezas en Fisiología

Vegetal y Fitopatología Molecular de Plantas hasta el límite que se marque el propio estudiante. Por todo lo anterior, consideramos que el presente proyecto es un complemento práctico adecuado al Espacio Europeo de la Educación Superior, que mejorará la gestión de recursos temporales y materiales de profesores y alumnos, al tiempo que incrementará sensiblemente la calidad docente y la potencialidad de aprendizaje en las asignaturas para las que está diseñado. También, nos ha permitido desarrollar un nuevo modelo de prácticas basado en la actualización de técnicas y protocolos así como en el manejo de equipos actuales y bases de datos que suplen las posibles carencias detectadas en la formación de los alumnos superando notablemente las expectativas iniciales. Entre las principales aportaciones del proyecto cabe destacar que las prácticas permiten al alumno tener una visión real de protocolos técnicos y además los alumnos se inician en el manejo de reactivos y técnicas moleculares cuyo requerimiento en el mercado laboral es elevado.

Respecto al rendimiento académico de los alumnos, el índice de satisfacción observado fue alto. Además, la realización de las prácticas les permitió una mejor asimilación del contenido teórico. Por tanto, podemos concluir que existe una relación directa entre los objetivos deseados, la metodología activa que se emplea y la evaluación obtenida.

Consideramos relevante hacer notar que este proyecto de **laboratorio virtual de fisiología y fitopatología molecular de plantas** ha sobrepasado las expectativas iniciales y en la actualidad participan en su elaboración todos los miembros del grupo, incluido PAS y becarios. Por otra parte, recursos no programados inicialmente, como conferencias internas del CIALE y demostraciones técnicas, estarán disponibles en el producto operativo el curso 2011-2012. Concluimos este informe con el compromiso de consolidar mediante actualización, ampliación y modificación, si fuera necesario, los contenidos del **Laboratorio Virtual de Fisiología y Fitopatología Molecular de Plantas**, en futuras convocatorias de proyectos de innovación docente.

Salamanca, 28 de junio de 2011.