



VNIVERSIDAD  
DSALAMANCA

**Memoria de actividades del proyecto de innovación docente**

## **iPLANT: Laboratorio virtual de Fisiología y Biología Molecular de Plantas.**

**Ref. ID9/069**

**Realizado por:**

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

Salamanca, 28 de Mayo de 2010

Departamento de Fisiología Vegetal-CIALE  
Universidad de Salamanca

## Resumen:

Hasta la fecha hemos documentado en video y editado varios protocolos básicos de utilidad en un laboratorio de Fisiología Vegetal, Biología Molecular de Plantas 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, Bioquímica y Biotecnología. El conjunto de los recursos está siendo adaptado a formatos de aprendizaje secuencial tutelado y evaluable que se integrará en la plataforma **Studium** de la Universidad de Salamanca y estará plenamente operativo en el segundo cuatrimestre del curso académico 2010-2011.

## 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, Biología Molecular de Plantas 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 construir 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, los profesores que redactan esta memoria atienden a más de 100 alumnos, de 1<sup>er</sup> y 2<sup>o</sup> 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:

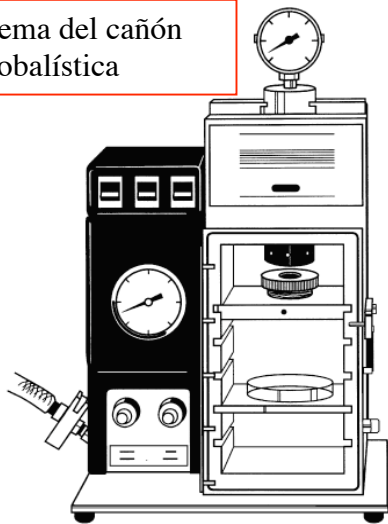
- 1) Documentación gráfica de protocolos experimentales.
- 2) Digitalización de imágenes con plantas modelo de experimentación.
- 3) Selección de material externo.
- 4) Ensayos docentes en la plataforma **Studium**.
- 5) Montaje del laboratorio virtual.

#### **1) Documentación gráfica de protocolos experimentales.**

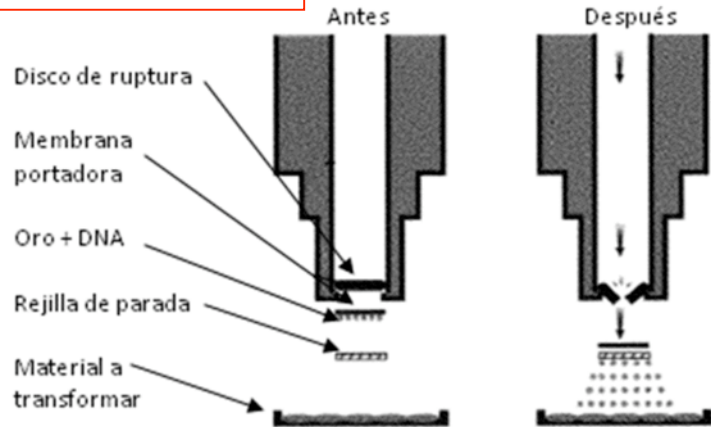
Hemos realizado grabaciones en vídeo digital de los protocolos habituales en nuestro laboratorio, realizando al menos tres grabaciones de cada procedimiento experimental y hasta el momento disponemos de varios videos editados como el ejemplo que se muestra en la Figura 1.

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

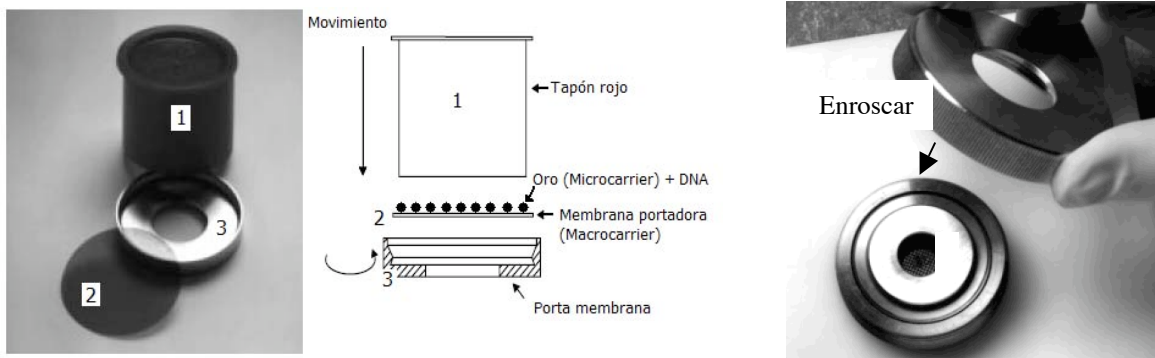
Esquema del cañón de biobalística



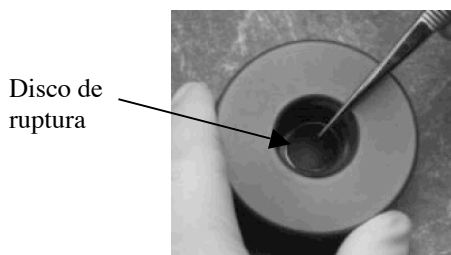
Esquema del disparo



Preparación del soporte de la membrana con la membrana y el DNA



Colocación del disco de ruptura en su soporte y colocación de éste en el cañón



Enroscar (no hace falta usar el palillo de acero)

**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.

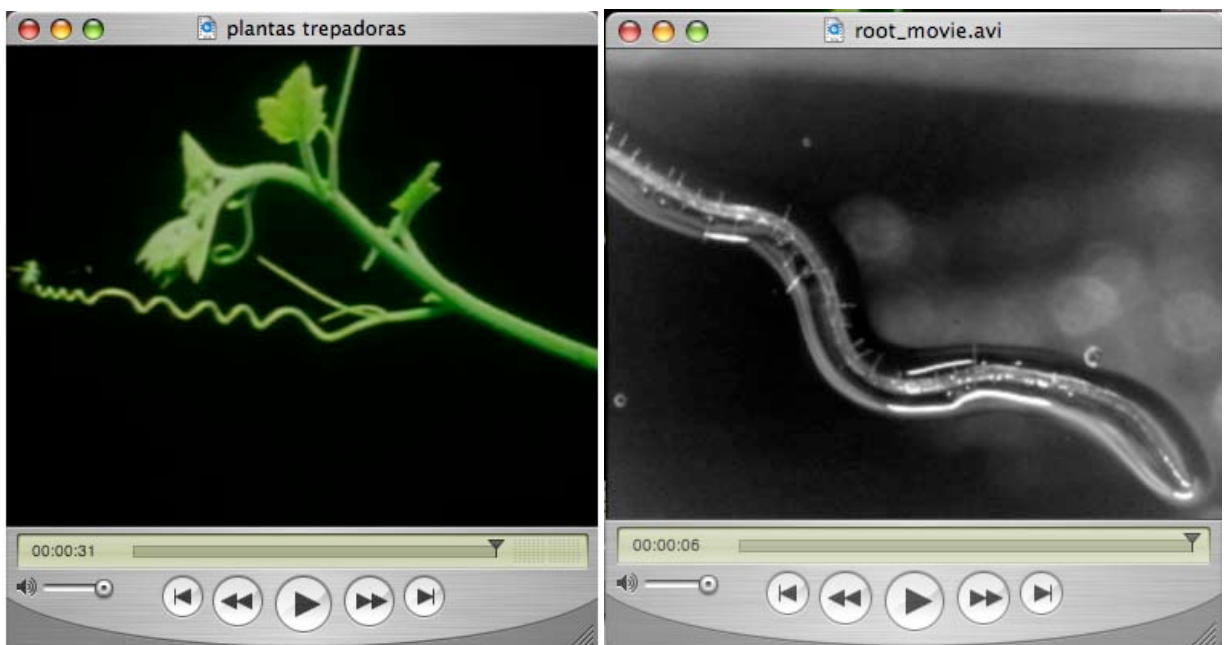
Del mismo modo, se han realizado imágenes digitales de diversas plantas modelo habituales en nuestro laboratorio, como los ejemplos que se muestran en la Figura 2.

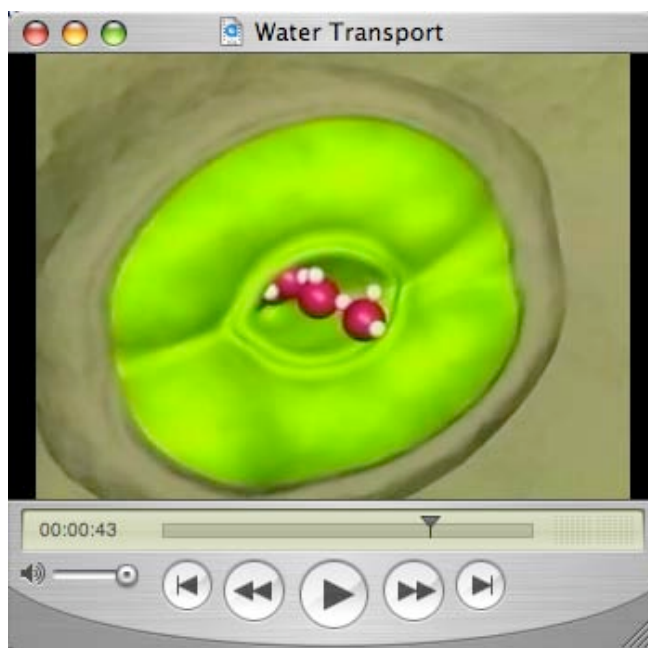


**Figura 2.-** Ejemplo de documentación digital de técnicas de laboratorio con plantas modelo de experimentación (Arabidopsis, izda. y señalización de heridas en plantas de patata, drcha.).

## 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***

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.


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**

**FISIOLOGÍA 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. At the top, the Studium logo and 'CAMPUS VIRTUAL' are visible. The user is identified as ÓSCAR LORENZO SÁNCHEZ. The main content area is titled 'Facultad de Biología' and 'FITOPATOLOGÍA MOLECULAR'. A list of 11 topics is shown, each with a checkbox and associated resources like 'Fotocopias' or 'Presentación'. The topics are:

- Tema 1.- Introducción al estudio de las interacciones moleculares entre planta-patógeno.** (Fotocopias Tema 1)
- Tema 2.- Arabidopsis como sistema modelo. Aproximaciones experimentales.** (Fotocopias Tema 2)
- 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)
- 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)
- Tema 5.- Mecanismos generales de defensa de las plantas frente a patógenos.**
- Tema 6.- Síntesis de las moléculas señalizadoras: ácido salicílico (SA), ácido jasmónico (JA) y etileno (ET).** (Fotocopias Tema 6-7 JAs, Fotocopias Tema 6-7 ET)
- 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)
- Tema 8.- Interacciones entre rutas de transducción de señales (crosstalk positivo y negativo).** (Fotocopias Tema 8 ERF1)
- Tema 9.- Función de los productos finales en la relación planta-patógeno.**
- Tema 10.- Aplicación de la Biotecnología Vegetal y mejora clásica de la resistencia a enfermedades.**
- 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)

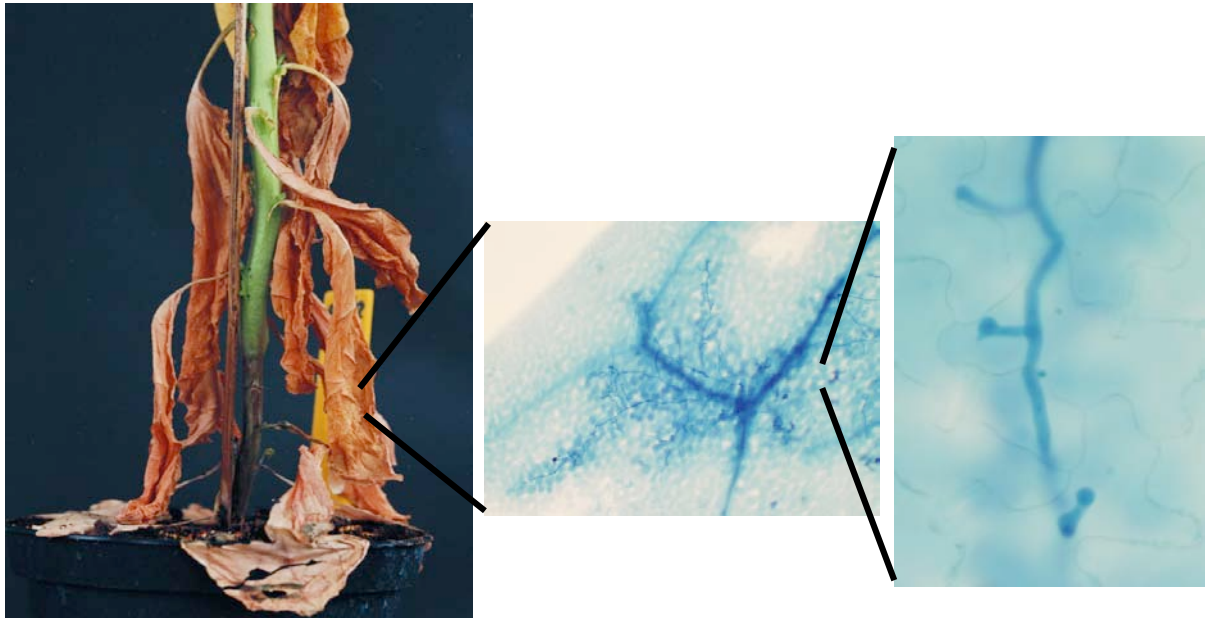
The interface also includes a left sidebar with navigation options like 'Personas', 'Actividades', 'Administración', and a right sidebar with 'Novedades' and 'Eventos próximos'.

**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-patígeno 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 amplian 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 Biología 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 biología 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 2010-2011. Concluimos este informe con el compromiso de consolidar mediante actualización, ampliación y modificación, si fuera necesario, los contenidos del **Laboratorio Virtual de Fisiología y Biología Molecular de Plantas**, como ya ha sido solicitado en la presente convocatoria de proyectos de innovación docente.

Salamanca, 28 de mayo de 2010.