



Curso de Postgrado (2012)

HIBRIDACION IN SITU EN VEGETALES Y SU APLICACION EN MEJORAMIENTO SISTEMATICA y EVOLUCION

Docente Responsable: Dra. Lidia Poggio

Docentes a Cargo: Dra. Graciela E. González
Dr. Eduardo Greirzerstein

Docente Invitada: Dra. Alexandra Gottlieb

OBJETIVOS:

Permitir el perfeccionamiento de profesionales que emplean la citogenética en sus métodos de estudio. Este curso les permitirá adquirir los fundamentos teóricos y prácticos de la hibridación *in situ* en vegetales.

METODOLOGIA:

Explicaciones teóricas, prácticas de laboratorio, discusión de seminarios y elaboración de proyectos de investigación que incluyan la Hibridación *In situ* Fluorescente como metodología.

PROGRAMA TEÓRICO

1.-Análisis Genómico:

Cariotipo: numero y morfología cromosómica. Contenido de ADN total. Heterocromatina. Bandas cromosómicas. Significado sistemático y evolutivo. Análisis meiótico en híbridos: evaluación de homologías cromosómicas. Citogenética molecular: Fundamentos teóricos de la hibridación *in situ* utilizando colorantes fluorescentes (FISH). Ventajas y desventajas en relación a las técnicas citológicas utilizadas para evaluar afinidades genómicas.



2.- Hibridación *In situ* utilizando secuencias cromosómicas específicas:

Principios básicos de la metodología del FISH, PRINS y C-PRINS. Localización mapeo físico de secuencias. Evaluación de la longitud y composición de secuencias teloméricas y heterocromáticas. Relación entre localización y composición de secuencias con adaptación. Localización de transgenes Hibridación genómica comparativa (CGH) y análisis de cromosomas sexuales. Supresión cromosómica *in situ* (CISS) Localización de secuencias centroméricas. Diversidad de secuencias repetidas en especies relacionadas y su significado evolutivo. Variabilidad en la distribución cromosómica de secuencias particulares: probable significado adaptativo Mapeo citológico de secuencias en estadios meióticos. ADN ribosomal: localización física, correlación entre fracciones heterocromatinas asociadas y dinámica funcional.

3.- Hibridación *in situ* genómica (GISH):

Resolución del origen de alo y autoploiploides y elaboración de hipótesis de evolución genómica en distintos grupos taxonómicos. Comparación de cariotipos, en especial aquellos con idéntica morfología. Detección de homologías entre especies con aislamiento precigótico o geográfico. Análisis de la arquitectura nuclear, posición de genomas y cromosomas en el núcleo interfásico. Detección de cromatina foránea o supernumeraria en híbridos (introgresión), líneas de sustitución y *I* o adición. Análisis de progenies en programas de mejoramiento vegetal. Distribución y ordenamiento espacial de cromosomas o sectores cromosómicos particulares: cromosomas sexuales, cromosomas B, mini cromosomas, regiones neocentroméricas. Detección de reorganización intergenómica en híbridos y poliploides Causas de variación somaclonal en cultivo de tejidos. Detección de autosíndesis y alosíndesis en estudios meióticos en híbridos y poliploides. Origen de los cromosomas con herencia no mendeliana: B, minicromosomas, Análisis comparativo de secuencias repetidas en cromosomas accesorios en distintos organismos

4.- Microdissección de cromosomas:

Fundamentos teóricos Aplicación en sistemática, evolución, mejora genética y diagnóstico. Creación de sondas específicas para utilizar en técnicas de FISH.



PROGRAMA PRÁCTICO

- 1) Preparación y marcado de sondas
 - a) Obtención de sondas de ADN genómico total
 - a.1) Extracción de ADN a partir de tejidos vegetales
 - b) Manejo de sondas insertas en plásmidos
 - b.1) Transformación
 - b.2) Cultivos para congelados permanentes (STAB)
 - b.3) Aislamiento del plásmido de ADN
 - b.4) Cuantificación en gel de agarosa
 - 1.2. Marcado de las sondas
 - a) Marcado enzimático
 - a.1) Nick translation
 - a.2) Marcado por "oligolabeling".
 - a.3) marcado por PCR
 - 1.3. Estimación del rendimiento de la marcación por Dot-blot
2. Reacción de hibridación entre la sonda y el ADN blanco
 - a) Obtención de preparaciones de cromosomas vegetales
 - b) Pretratamientos y lavados
 - c) Preparación de la mezcla de hibridación
 - d) Desnaturalización e hibridación
 3. Remoción de la sonda que no se unió o que hibridó de manera inespecífica
 4. Detección visual de los sitios de hibridación
 5. Sistema de microdissección láser
 6. Microdissección y clonado de cromosomas en plantas
 - a) Preparación de células vegetales para la microdissección
 - a.1) Contracción de cromosomas
 - a.2) Tratamiento enzimático
 - a.3) Preparaciones
 - b) Preparación de cubreobjetos
 - c) Extracción de ADN cromosómico
 - d) DOP- PCR y amplificación directa



MODALIDAD DE EVALUACION:

Exposición de seminarios y elaboración de proyectos de investigación que incluyan la Hibridación In situ Fluorescente como metodología dentro del marco teórico-práctico de la línea de investigación de cada participante del curso.

BIBLIOGRAFIA GENERAL

- Chester M., Leitch A. R., Soltis P. S. and Soltis D. E. Review of the Application of Modern Cytogenetic Methods (FISH/GISH) to the Study of Reticulation (Polyploidy/Hybridisation). *Genes* 2010, 1, 166-192.
- Fominaya A., Linares C., Loarce Y., Ferrer E. 2005. Microdissection and microcloning of plant chromosomes. *Cytogenet Genome Res* 109:8-14.
- Guerra M. 2004. FISH -(Fluorescent *in Situ* Hybridization) Conceitos e Aplicações na Citogenética. Encadernação: Brochura. PP 84. ISBN: 85-89265-06-4.
- Heslop-Harrison J. S. and Schwarzacher T. 2011. The plant genome: an evolutionary view on structure and function. *The Plant Journal* 66: 18-33.
- Markova M. and Vyskot B. New horizons of genomic *in situ* hybridization (GISH). 2009. *Cytogenet Genome Res* 126:368-375.
- Menke M., Fuchs J. and Schubert I. 1998. A comparison of sequence resolution on plant chromosomes: PRINS versus FISH. *Theor Appl Genet* 97: 1314-1320.
- Poggio L., González G., Ferrari M.R., García A.M., Wulff A., Greizerstein E., Tomás P. y Schrauf G. 2010. Citogenética: Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II. Parte V, Cap. 1. Ediciones INTA. ISBN 987-521-138-9. PP 379-388.
- Schubert I., Fransz P. F., Fuchs J. and Hans de Jong J. 2001. Chromosome painting in plants. *Methods in Cell Science* 23: 57-69.
- Schwarzacher T. and Heslop-Harrison J. S. 2000. Practical *in situ* hybridization. pp. 203. ISBN 1-85996-138-X.



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Ref. Expte. N° 490.087/2007
Buenos Aires,

03 DIC 2012

VISTO:

La nota de fecha 03/10/2012, presentada por la Dra. Irina Izaguirre, Directora del Departamento de Ecología Genética y Evolución, mediante la cual eleva la información del curso de posgrado **HIBRIDACIÓN IN SITU EN VEGETALES Y SU APLICACIÓN EN MEJORAMIENTO, SISTEMÁTICA Y EVOLUCIÓN**, que será dictado durante el Segundo cuatrimestre de 2012 (desde el 10 al 21 de diciembre de 2012) por la Dra. Lidia Poggio con la colaboración del Dr. Eduardo Greizerstein y la Dra. Graciela Esther González

CONSIDERANDO:

Lo actuado en la Comisión de Doctorado el 23/10/2012
lo actuado en la Comisión de Enseñanza, Programas, Planes de Estudio y Postgrado,
lo actuado en la Comisión de Presupuesto y Administración,
lo actuado por este cuerpo en Sesión Ordinaria realizada en el día de la fecha,
en uso de las atribuciones que le confiere el Artículo 113° del Estatuto Universitario,

**EL CONSEJO DIRECTIVO DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
RESUELVE:**

Artículo 1°: Autorizar el dictado del Curso de Posgrado **HIBRIDACIÓN IN SITU EN VEGETALES Y SU APLICACIÓN EN MEJORAMIENTO, SISTEMÁTICA Y EVOLUCIÓN**, de 80 horas de duración

Artículo 2° Aprobar el programa del curso de posgrado **HIBRIDACIÓN IN SITU EN VEGETALES Y SU APLICACIÓN EN MEJORAMIENTO, SISTEMÁTICA Y EVOLUCIÓN** obrante de fs 42 a 45 del expediente de la referencia.


Artículo 3°: Aprobar un puntaje máximo de tres (3) puntos para la Carrera del Doctorado.

Artículo 4°: Aprobar un arancel de 500 módulos. Disponer que los montos recaudados serán utilizados conforme a los dispuesto por Resolución CD N° 072/03.

Artículo 4°: Comuníquese a la Dirección del Departamento de Ecología, Genética y Evolución y a la Biblioteca de la FCEN y a la Subsecretaría de Postgrado con fotocopia del programa incluida (fs 42 a fs 45). Cumplido archívese.

RESOLUCIÓN CD N° 2807

SP/med/12/11/2012


Dr. JAVIER LÓPEZ DE CASENAVE
SECRETARIO ACADEMICO


Dr. JORGE ALATORRE
SECRETARIO