

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES.
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES.

- 1.- Departamento de Ciencias Biológicas
 - 2.- Carrera de: a) Licenciatura en **ORIENTACION**.....
 b) Doctorado y/o Post-Grado en Ciencias Biológicas
 c) Profesorado en
 d) Cursos Técnicos en Meteorología
 e) Cursos de Idiomas
 - 3.- 1er. CUATRIMESTRE/2do. CUATRIMESTRE (28 de julio al 8 de agosto) Año 1997
 - 4.- No. de **CODIGO DE CARRERA**
 - 5.- **MATERIA Fitopatología Molecular** **No. DE CODIGO**
 - 6.- **PUNTAJE PROPUESTO** (en caso de tratarse de materias optativas para la Licenciatura y/o Post-Grado) 4 puntos
 - 7.- **PLAN DE ESTUDIO** Año
 - 8.- **CARACTER DE LA MATERIA** (obligatoria u optativa) : Optativa
 - 9.- **DURACION** (anual, cuatrimestral, bimestral u otra) Otra : 2 semanas
 - 10.- **HORAS DE CLASE SEMANAL:**

| | |
|----------------------------|---------------------------------|
| a) Teóricas hs 15 | d) Seminarios hs 5 |
| b) Problemas hs 0 | e) Teórico-problemas .. hs 0 |
| c) Laboratorio hs 25 | f) Teórico-prácticas hs 0 |
| d) Totales Horas 45 | |
 - 11.- **CARGA HORARIA TOTAL 90 hs**
 - 12.- **ASIGNATURAS CORRELATIVAS:** Ser graduado o estudiante avanzado de Agronomía, Ciencias Biológicas, Ciencias Químicas, Biotecnología o carreras afines que estén desarrollando tareas (o tengan posibilidades de hacerlo) en el área de sanidad vegetal y que deseen actualizar sus conocimiento en el campo de biotecnologías aplicadas al diagnóstico de enfermedades y al mejoramiento genético de la resistencia a éstas. Los postulantes deberán tener conocimientos básicos de biología molecular y de fitopatología así como estar familiarizados con la lectura y análisis de publicaciones internacionales en idioma inglés.
 - 13.- **FORMA DE EVALUACION:** Exposición de seminarios y Examen final
 - 14.- **PROGRAMA ANALITICO:**
- Temas teóricos y de Seminarios**
- Diagnóstico de fitopatógenos por técnicas moleculares: hibridación con sondas de ácidos nucleicos, immunoblotting, PCR, etc. Obtención de antígenos recombinantes, diseño de oligonucleótidos y sondas específicas y generales, etc.
 - Biología molecular de la fitopatogenicidad: Clasificación molecular de los virus, organización genómica, ciclo de replicación, determinantes de virulencia (ej., PVX, TMV). Eventos de reconocimientos en bacterias, genes de avirulencia (*avr*), determinantes del rango de hospedantes (ej., *Pseudomonas*, *Xanthomonas*). Genes de reacción y patogenicidad en hongos, elicidores y respuesta primaria (ej., *Clamidosporium*, royas, etc.)
 - Utilización de marcadores moleculares: caracterización y clasificación de fitopatógenos y de los loci de resistencia en las plantas.
 - Análisis estructural y funcional de los genes de resistencia en plantas. Aspectos moleculares de los distintos mecanismos de defensa. Localización genética y sintonías evolutivas de genes de resistencia en especies vegetales relacionadas. Clonado molecular posicional de genes de resistencia (genotecas en BACs y YACs)
 - Nuevas estrategias para el mejoramiento genético para el control de fitopatógenos: Producción de plantas transgénicas con resistencia a virus, hongos y bacterias (expresión de proteína de cápside, de replicasa, glucanasas, quitinasas, etc.). Mejoramiento "clásico" asistido por marcadores moleculares

Trabajos prácticos (laboratorio)

- Diagnóstico y determinación de cepas/razas de patógenos mediante: ELISA, western, PCR e hibridación con sondas de ácidos nucleicos
 - Detección de plantas transgénicas por PCR
 - Evaluación de la expresión de transgenes mediante western blot y actividad biológica (ej., resistencia a la infección por virus)

15.- BIBLIOGRAFIA:

- I. Covey, S.N. and Hull, R. (1992) Genetic Engineer with Double-Stranded DNA Viruses. in "genetic Engineering with Plant Viruses" (T.M.A. Wilson, J.W.D., eds.) CRC Press, Boca raton, Florida, 217.
 - II. Culver, J.N. and Dawson, W.O. (1990) Modifications of the coat protein gene of tobacco mosaic virus resulting in the induction of necrosis. in "Recognition and response in Plant-Virus interactions" (Fraser, R.S.S., eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 337.
 - III. Culver, J.N., Lindbeck, A.G.C. and Dawson, W.O. (1991) Virus-Host interactions: Induction of Chlorotic and Necrotic Response in Plants by Tobamoviruses. *Annu. Rev. Phytopathology*, **29**, 193.
 - IV. Day, P.R. (1992) Plant Pathology and Biotechnology: choosing your weapons. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **30**, 1.
 - V. Dixon, R.A., Harrison, J.M. and Lamb, C.J. (1994) Early events in the activation of plant defense response. *Annu. Rev. Phytopathology*, **32**, 479.
 - VI. Fraser, R.S.S. (1990) Recognition and response in plant-virus interactions: some underlying concepts. in "Recognition and response in Plant-Virus interactions" (Fraser, R.S.S., eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1.
 - VII. Greenberg, J.T., Guo, A., Klessig, D.F. and Ausubel, F.M. (1994) Programmed Cell Death in Plants: A Pathogen-Triggered Response Activated Coordinately with Multiple Defense Functions. *Cell*, **77**, 551.
 - VIII. Hanley-Bowdoin, L. and Hemenway (1992) Expression of Plants Viral Genes in Transgenic Plants. in "genetic Engineering with Plant Viruses" (T.M.A. Wilson, J.W.D., eds.) CRC Press, Boca raton, Florida, 251.
 - IX. Henson, J. M. and French, R. (1993). The Polymerase Chain Reaction and Plant Disease Diagnosis. *Annu. Rev. Phytopathology* **31**, 81-109.
 - X. Howell, S.H. and Zaitlin, M. (1992) The Impact of Genetic Engineering on Classical Plant Virology - Postscript and Perspectives. in "Genetic Engineering with Plant Viruses" (T.M.A. Wilson, J.W.D., eds.) CRC Press, Boca raton, Florida, 323.
 - XI. Hull, R. and Davies, J.W. (1992) Approaches to Nonconventional Control of Plant Virus Diseases. *Critical Reviews in Plant Science*, **11**, 17.
 - XII. Mansfield, J. (1990) Recognition and response in plant-fungus interactions. in "Recognition and response in Plant-Virus interactions" (Fraser, R.S.S., eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 31.
 - XIII. Martin, G.B. (1995) Recent successes in cloning plant disease resistance genes. in "Plant-microbe interactions" (Edited by Stacey G., K.N., eds.).
 - XIV. Michelmore, R.W., Kesseli, R.V., Francis, D.M., Fortin, M.G. and Paran, I. (1992) Strategies for cloning plant disease resistance genes. in "Molecular Plant Pathology - A Practical Approach" (Gurr, S.J., McPherson, M.J.; and Bowles D.J., eds.) IRL Press, Oxford, 233.
 - XV. Mundry, K.-W., Schaible, W., Ellwart-Tschürtz, M., Nitschko, H. and Hapke, C. (1990) Hypersensitivity to tobacco mosaic virus in N⁺-gene hosts: which viral genes are involved? in "Recognition and response in Plant-Virus interactions" (Fraser, R.S.S., eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 345.
 - XVI. Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. (1993) Genetic diagnostics in plant breeding: RAPD, microsatellites and machines. *Trends Genet.*, **9**, 275.
 - XVII. Scholthof, K.-B.G., Scholthof, H.B. and Jackson, A.O. (1993) Control of Plant Diseases by Pathogen-Derived Resistance in Transgenic Plants. *Plant Physiol.*, **102**, 7.
 - XVIII. Sleat, D.E. and Wilson, M.A. (1992) Plant Virus Genomes as Sources of Novel Functions for Genetic Manipulations. in "genetic Engineering with Plant Viruses" (T.M.A. Wilson, J.W.D., eds.) CRC Press, Boca raton, Florida, 55.
 - XIX. Verduin, B.J.M. (1992) Early interactions between viruses and plants. *Seminars in Virology*, **3**, 423.
 - XX. Vivian, A. (1990) Recognition in resistance to bacteria. in "Recognition and response in Plant-Virus interactions" (Fraser, R.S.S., eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 17.
 - XXI. Wit, P.J.G.M.d. (1992) Molecular Characterization of Gene-for-Gene Systems in Plant-Fungus Interactions and the Applications of Avirulence Genes in Convrtrol of Plant Pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **30**, 391.

FECHA: 4 de junio de 1997

FIRMA PROFESOR:

Aclaración firma: Dr. H. Esteban Hopp

FIRMA DIRECTOR:

Sello Aclaratorio:

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES.
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES.
Departamento de Ciencias Biológicas

Asignatura: Fitopatología molecular

Justificación

Los conocimientos de la biología molecular de la interacción hospedante patógeno avanzan rápidamente. Esto se observa en la progresiva disección molecular de los eventos de colonización e infección y de reacción del hospedante. Se han identificado las sustancias generadas en el proceso de infección bacteriana o fúngica que disparan los mecanismos de resistencia del hospedante (Dixon et al., 1994; Mansfield, 1990, Vivian, 1990, Verduin, 1992, Wit, 1992). También se ha avanzado en la determinación de las enzimas que las distintas cepas bacterianas o fúngicas producen y cómo éstas son reguladas. Estas enzimas, principalmente enzimas para degradar componentes de la pared celular, funcionarían como factores de virulencia principales y estarían involucradas en la determinación del rango de hospedantes. Pequeñas moléculas señales producidas por los patógenos actúan midiendo la densidad de la colonia y coordinando entre los individuos la síntesis de las enzimas de degradación, determinando el momento de iniciar la infección con mayores oportunidades de éxito (Greenberg et al., 1994).

En los virus vegetales también se han localizado a nivel molecular los determinantes de virulencia para distintos genes de resistencia del hospedante. Estos determinantes se encuentran dispersos en todo el genoma viral (Culver y Dawson, 1990; Culver et al., 1991; Fraser, 1990; Mundry et al., 1990). Los virus fitopatógenicos son hoy en día modelos de estudio de la regulación genética de plantas, como ejemplo, la mayoría de los transgenes expresados en vegetales tienen promotores virales (Sleat y Wilson, 1992; Scholthof et al., 1993; Hull y Davies, 1992; Hanley-Bowdoin y Hemenway, 1992; Howell y Zaitlin, 1992).

En el análisis de los aspectos moleculares de la interacción hospedante patógeno, la obtención de plantas transgénicas con genes de diversos orígenes (genes de distintos patógenos, de distintos hospedantes o genes artificiales) permiten crear materiales biológicos de valor irreemplazable como herramientas de estudio. Algunas de estas plantas muestran un potencial de uso que llevarían a un cambio global en las prácticas agrícolas fitosanitarias (Covey y Hull, 1992; Day, 1992;).

La utilización de marcadores moleculares resulta actualmente una herramienta indispensable para la caracterización y clasificación de poblaciones de fitopatógenos (patotipos, velocidad de evolución y dinámica de poblaciones), para la localización y caracterización genética de los loci de resistencia del hospedante, para ayudar al mejoramiento genético, valorización del germoplasma y para el clonado molecular de los mismos. Actualmente, una decena de genes han sido clonados y secuenciados y las primeras evidencias muestran su intervención en los pasos de transducción de señales (Martin, 1995; Michelmore, 1992; Rafalski y Tingey, 1993).

Las nuevas técnicas de PCR y RT-PCR han mostrado ser de enorme utilidad en el diagnóstico de distintos patógenos (virodes, virus, bacterias, hongos, etc.), tanto con genoma compuesto de DNA como de RNA. En muchos casos se han desarrollado primers que permiten la detección de un grupo o género de patógenos, como así también existen primers que permiten diferenciar cepas dentro de una especie (Henson y French, 1993).

Todos estos temas son apenas cubiertos por las materias de grado de las carreras universitarias de las ciencias biológicas o agronómicas. Estos nuevos conocimientos no sólo repercuten en el área de investigación al señalar nuevas líneas y técnicas de investigación y al brindar nuevas bases para el análisis de los resultados obtenidos con las metodologías clásicas; sino que también modifican el campo de las tecnologías, al generar nuevas prácticas de control.

Por estas razones resulta de importancia la realización de cursos enfocados a completar la formación de estudiantes y a la actualización de profesionales graduados en los aspectos moleculares de la interacción hospedantes vegetales y sus patógenos, y de nuevas técnicas de diagnóstico.

APROBADO POR RESOLUCION 20/10/98

LIC. BEATRIZ GONZALEZ
SECRETARIA ACADÉMICA
DEPTO. DE BIOLOGÍAS - F.C.E. y F.

Objetivos:

Actualizar a los participantes en los conocimientos moleculares de la interacción hospedante vegetal-patógeno. Instruirlos en los alcances fitosanitarios que tendrá la introducción al sistema productivo de plantas transgénicas. Entrenar a los participantes en la utilización de una serie de técnicas moleculares de diagnóstico.

Programa:

Temas teóricos y de Seminarios

- Diagnóstico de fitopatógenos por técnicas moleculares: hibridación con sondas de ácidos nucleicos, inmunoblotting, PCR, etc. Obtención de antígenos recombinantes, diseño de oligonucleótidos y sondas específicas y generales, etc.
- Biología molecular de la fitopatogenicidad: Clasificación molecular de los virus, organización genómica, ciclo de replicación, determinantes de virulencia (ej., PVX, TMV). Eventos de reconocimientos en bacterias, genes de avirulencia (*avr*), determinantes del rango de hospedantes (ej., *Pseudomonas*, *Xanthomonas*). Genes de reacción y patogenicidad en hongos, elicidores y respuesta primaria (ej., *Clamidosporium*, royas, etc.)
- Utilización de marcadores moleculares: caracterización y clasificación de fitopatógenos y de los loci de resistencia en las plantas.
- Análisis estructural y funcional de los genes de resistencia en plantas. Aspectos moleculares de los distintos mecanismos de defensa. Localización genética y sintenias evolutivas de genes de resistencia en especies vegetales relacionadas. Clonado molecular posicional de genes de resistencia (genotecas en BACs y YACs)
- Nuevas estrategias para el mejoramiento genético para el control de fitopatógenos: Producción de plantas transgénicas con resistencia a virus, hongos y bacterias (expresión de proteína de cápside, de replicasa, glucanasas, quitinasas, etc.). Mejoramiento "clásico" asistido por marcadores moleculares

Trabajos prácticos (laboratorio)

- Diagnóstico y determinación de cepas/razas de patógenos mediante: ELISA, western, PCR e hibridación con sondas de ácidos nucleicos
- Detección de plantas transgénicas por PCR
- Evaluación de la expresión de transgenes mediante western blot y actividad biológica (ej., resistencia a la infección por virus)

Carácter: Optativo. Curso de post grado.

Duración: 28 de julio al 8 de agosto de 1997 (todos los días, dedicación exclusiva)

Dedicación: El curso se desarrollará durante 10 días de 9 hs (90 hs). Clases teóricas y discusión, 40 hs. Desarrollo de trabajos prácticos, 50 hs.

Número de alumnos: Máximo 20.

Horas de clase: Seminarios: 10 horas.

Teóricas: 30 horas.

Laboratorio: 50 horas

BG / EMG
LIC. BEATRIZ GONZALEZ
SECRETARIA ACADÉMICA
DEPTO. CS. BIOLÓGICAS - F.C.E. y S.S.

Total: 90 horas

Requisitos: Graduados o Alumnos avanzados en Agronomía, Ciencias Biológicas, Ciencias Químicas, Biotecnología o carreras afines que estén desarrollando tareas (o tengan posibilidades de hacerlo) en el área de sanidad vegetal y que deseen actualizar sus conocimiento en el campo de biotecnologías aplicadas al diagnóstico de enfermedades y al mejoramiento genético de la resistencia a éstas. Los postulantes deberán tener conocimientos básicos de biología molecular y de fitopatología así como estar familiarizados con la lectura y análisis de publicaciones internacionales en idioma inglés.

Forma de Evaluación: Exposición de seminarios y Examen final

Docentes:

Dr. Esteban Hopp (coordinador general)
Ing. Agr. Alejandro Tozzini (MSc)
Ing. Agr. Eduardo Wright (FAUBA)
Dra. Mariana del Vas
Lic. María Carolina Martínez
Lic. Sebastián Asurmendi
Lic. Cecilia Vázquez Rovere
Lic. Susana Marcucci Poltri

Lugar del curso: Instituto de Biotecnología, CICV, INTA-Castelar

Inscripción: Dr. H. Esteban Hopp

Domicilio: Los Reseros y Las Cabañas, Villa Udaondo, Hurlingham

Teléfono: 621-1447/1676/1278/1127

Fax: 481-2975

E-mail: Steffy@bminta.edu.ar

Puntaje propuesto para el Doctoradoen Ciencias Biológicas: 4 puntos

Bibliografía:

1. Covey, S.N. and Hull, R. (1992) Genetic Engineer with Double-Stranded DNA Viruses. in "genetic Engineering with Plant Viruses" (T.M.A. Wilson, J.W.D., eds.) CRC Press, Boca raton, Florida, 217.
2. Culver, J.N. and Dawson, W.O. (1990) Modifications of the coat protein gene of tobacco mosaic virus resulting in the induction of necrosis. in "Recognition and response in Plant-Virus interactions" (Fraser, R.S.S., eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 337.
3. Culver, J.N., Lindbeck, A.G.C. and Dawson, W.O. (1991) Virus-Host interactions: Induction of Chlorotic and Necrotic Response in Plants by Tobamoviruses. *Annu. Rev. Phytopathology*, **29**, 193.
4. Day, P.R. (1992) Plant Pathology and Biotechnology: chosing your weapons. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **30**, 1.
5. Dixon, R.A., Harrison, J.M. and Lamb, C.J. (1994) Early events in the activation of plant defense response. *Annu. Rev. Phytopathology*, **32**, 479.

APROBADO POR RESOLUCION CD 1049

13
Lia. BEATRIZ GONZALEZ
SECRETARIA ACADÉMICA
DEPTO. CS. BIOLÓGICAS - F.C.B. 3^{er}

6. Fraser, R.S.S. (1990) Recognition and response in plant-virus interactions: some underlying concepts. in "*Recognition and response in Plant-Virus interactions*" (Fraser, R.S.S., eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1.
7. Greenberg, J.T., Guo, A., Klessig, D.F. and Ausubel, F.M. (1994) Programmed Cell Death in Plants: A Pathogen-Triggered Response Activated Coordinately with Multiple Defense Functions. *Cell*, **77**, 551.
8. Hanley-Bowdoin, L. and Hemenway (1992) Expression of Plants Viral Genes in Transgenic Plants. in "*genetic Engineering with Plant Viruses*" (T.M.A. Wilson, J.W.D., eds.) CRC Press, Boca raton, Florida, 251.
9. Henson, J. M. and French, R. (1993). The Polymerase Chain Reaction and Plant Disease Diagnosis. *Annu. Rev. Phytopathology* **31**, 81-109.
10. Howell, S.H. and Zaitlin, M. (1992) The Impact of Genetic Engineering on Classical Plant Virology - Postscript and Perspectives. in "*genetic Engineering with Plant Viruses*" (T.M.A. Wilson, J.W.D., eds.) CRC Press, Boca raton, Florida, 323.
11. Hull, R. and Davies, J.W. (1992) Approaches to Nonconventional Control of Plant Virus Diseases. *Critical Reviews in Plant Science*, **11**, 17.
12. Mansfield, J. (1990) Recognition and response in plant-fungus interactions. in "*Recognition and response in Plant-Virus interactions*" (Fraser, R.S.S., eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 31.
13. Martin, G.B. (1995) Recent successes in cloning plant disease resistance genes. in "*Plant-microbe interactions*" (Edited by Stacey G., K.N., eds.) .
14. Michelmore, R.W., Kesseli, R.V., Francis, D.M., Fortin, M.G. and Paran, I. (1992) Strategies for cloning plant disease resistance genes. in "*Molecular Plant Pathology - A Practical Approach*" (Gurr, S.J., McPherson, M.J.; and Bowles D.J., eds.) IRL Press, Oxford, 233.
15. Mundry, K.-W., Schaible, W., Ellwart-Tschürtz, M., Nitschko, H. and Hapke, C. (1990) Hypersensitivity to tobacco mosaic virus in N'-gene hosts: which viral genes are involved? in "*Recognition and response in Plant-Virus interactions*" (Fraser, R.S.S., eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 345.
16. Rafalski, J.A. and Tingey, S.V. (1993) Genetic diagnostics in plant breeding: RAPD, microsatellites and machines. *Trends Genet*, **9**, 275.
17. Scholthof, K.-B.G., Scholthof, H.B. and Jackson, A.O. (1993) Control of Plant Diseases by Pathogen-Derived Resistance in Transgenic Plants. *Plant Physiol*, **102**, 7.
18. Sleat, D.E. and Wilson, M.A. (1992) Plant Virus Genomes as Sources of Novel Functions for Genetic Manipulations. in "*genetic Engineering with Plant Viruses*" (T.M.A. Wilson, J.W.D., eds.) CRC Press, Boca raton, Florida, 55.
19. Verduin, B.J.M. (1992) Early interactions between viruses and plants. *Seminars in Virology*, **3**, 423.

LIC. BEATRIZ GONZALEZ
SECRETARIA ACADEMICA
DEPTO. CS. BIOLÓGICAS - F.C.E.Y.P.

20. Vivian, A. (1990) Recognition in resistance to bacteria. in "*Recognition and response in Plant-Virus interactions*" (Fraser, R.S.S., eds.) Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 17.
21. Wit, P.J.G.M.d. (1992) Molecular Characterization of Gene-for-Gene Systems in Plant-Fungus Interactions and the Applications of Avirulence Genes in Conytrol of Plant Pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.*, **30**, 391.



Blu
✓

LIC. BEATRIZ GONZALEZ
SECRETARIA ACADEMICA
INSTITUTO CECIBUS