



Universidad de Buenos Aires
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Departamento de Ciencias Biológicas

Int. Güiraldes 2620
Ciudad Universitaria - Pab. II, 4º Piso
CP:1428 Nuñez, Ciudad Autónoma de Buenos Aires
Argentina

☞ : <http://www.bg.fcen.uba.ar>

Carrera: Licenciatura en Ciencias Biológicas	Código de la carrera: 05
Carrera: Doctorado en Ciencias Biológicas	Código de la carrera: 55
	Código de la materia: 7-274

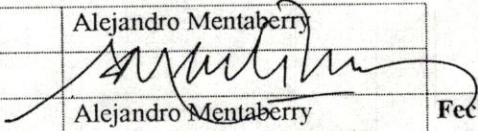
AGROBIOTECNOLOGIA

CARÁCTER:	[SI / NO]	PUNTAJE:
Curso obligatorio de licenciatura (plan)	no	----
Curso optativo de licenciatura (plan 1984)	si	----
Curso de postgrado	si	5

Duración de la materia: 16 semanas	Cuatrimestre en que se dicta: segundo
Frecuencia en que se dicta: anual	

Horas de clases:		Hs.
	Teóricas	52
	Problemas	--
	Laboratorios	50
	Seminarios	16
Carga horaria semanal:		8
Carga horaria total cuatrimestral:		126

Asignaturas correlativas:	Genética I;

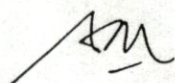
Profesor/a a cargo:	Alejandro Mentaberry	
Firma:		
Aclaración:	Alejandro Mentaberry	Fecha: 26/11/1999

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA

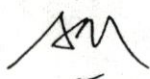
Contenidos Teóricos

1. La "revolución verde" y la moderna agrobiotecnología. Principales tecnologías participantes de estos procesos. Tendencias y perspectivas actuales en agrobiotecnología. Prospectivas socio-económicas en los países centrales y en los países en desarrollo. Impacto en el agricultura latinoamericana.
2. Cultivo de tejidos vegetales. Regeneración de plantas in vitro. Totipotencia. Proliferación a partir de brotes axilares. Organogénesis. Embriogénesis somática. Fitoreguladores. Organización del laboratorio y técnicas básicas de cultivo de tejidos. Regeneración de plantas a partir de protoplastos.
3. Aplicaciones del cultivo de tejidos vegetales. Propagación masiva, liberación de patógenos, conservación de recursos genéticos e intercambio de germoplasma. Cultivo de anteras y sus aplicaciones: desarrollo de haploides. Desarrollo de semillas artificiales. Fusión de células somáticas. Variación somatoclinal.
4. Biofábricas de plantas. Estructura del laboratorio. Componentes de producción masiva de microplantas. Problemas de producción: contaminación; vitrificación aclimatación. Consideraciones económicas. Costos de producción y mercados. Nuevas tendencias: Inmersión temporaria, robotización, cultivos sin esterilización, microestacas, semillas sintéticas. Casos típicos: producción de cultivos hortícolas; plantas ornamentales, frutales, forestales, etc.
5. Sistemas de cultivo de células vegetales. Características de las suspensiones celulares. Configuración y operación de bioreactores. Transferencia de masa y recuperación de productos. Procesos alternativos de producción: tejidos y células inmobilizadas; *hairy roots*. Potencial futuro y nuevos productos.
6. Técnicas de transformación vegetal basadas en *Agrobacterium*. Biología molecular del *Agrobacterium*. Vectores de cointegración y vectores binarios. Métodos de transformación: inoculación de tallos; cocultivo de discos de hojas, de tubérculos, protoplastos, inoculación de semillas, etc. Transformación *in vivo* mediante infiltración con *Agrobacterium*. Genes de selección: resistencia a kanamicina, higromicina, sulfodiazinas, fosfinotricinas. Genes reporteros: GUS, β -galactosidasa, luciferasa; GFP.
7. Sistemas de transferencia de genes basados en virus vegetales. Caulimovirus. El caso del CaMV. Geminivirus. Virus a RNA de simple cadena: TMV, BMV, BNYW y PVX como vectores de transformación. Limitaciones y posibilidades de los virus vegetales como vectores de transformación. Agroinfección.
8. Sistemas de transferencia directa de genes. Transferencia de genes a protoplastos basada en métodos químicos o en electroporación. Bombardeo con microproyectiles (biobalística). Electroporación de tejidos vegetales. Otros métodos.
9. Resistencia a virus vegetales por métodos de ingeniería genética. Protección mediada por la cápside. Protección mediante transcritos de RNA. Protección mediada por



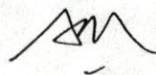
otras funciones virales (replicasas, proteínas de transporte). Resistencia derivada de genes no virales. Genes de resistencia presentes en el germoplasma vegetal.

10. Resistencia a insectos por métodos de ingeniería genética. Entomotoxinas de *Bacillus thuringiensis*. Introducciones comerciales y problemas asociados. Inhibidores de proteasas y de α -amilasas. Lectinas. Otras proteínas insecticidas de origen vegetal. Genes insecticidas de origen animal. Resistencia a nemátodos.
11. Resistencia a bacterias por métodos de ingeniería genética. Expresión de proteínas antibacterianas: lizosima, atacina y cecropina. Tioninas, Otras proteínas con actividad antimicrobiana: lactoferrina, taquilepsina, glucosa oxidasa. Inhibición de toxinas bacterianas. Otros enfoques potenciales.
12. Resistencia a hongos por métodos de ingeniería genética. Expresión de proteínas con actividad antifúngica: quitinasas, glucanasas, PRs, defensinas. Manipulación de especies reactivas de oxígeno. Expresión de fitoalexinas. Utilización de genes de resistencia (genes R) y de las respuestas de hipersensibilidad y sistémica adquirida. Utilización de interacciones sinérgicas.
13. Manipulación genética de resistencia a herbicidas. Estrategias de detoxificación y de modificación de la enzima blanco. Resistencia a imidazolidonas, sulfonilureas, triazinas, glifosatos y fosfinotricinas. Ensayos de campo y variedades comerciales con resistencia incorporada.
14. Manipulación genética de fenotipos vegetales y de rutas metabólicas. Manipulación de los niveles de ácidos grasos y almidón. Modificación del contenido de ácidos grasos saturados e insaturados. Modificación de la síntesis de sacarosa y almidón y de la partición de carbohidratos Control de la maduración de los frutos. Durabilidad y pigmentación floral. Modificación de la composición de lignina. Androesterilidad.
15. Biotecnología algal. Cultivos masivos. Biorremediación: remoción de nutrientes, metales pesados, polucionantes orgánicos. Producción de compuestos de interés: pigmentos, ácidos grasos insaturados, polisacáridos, aditivos de valor nutricional. Microalgas para la alimentación. Utilización en agricultura. Manipulación genética de microalgas: requisitos, problemas y alcances.
16. Las plantas como bioreactores. Producción de proteínas exógenas en plantas: anticuerpos, hormonas, enzimas, etc. Utilización de raíces transformadas para la producción de compuestos de interés farmacológico. Manipulación de proteínas de reserva de las semillas.
17. Detección y caracterización de patógenos vegetales. Inmunoensayos: test de ELISA y inmunoblots sobre membranas. Métodos de hibridación molecular. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Detección de dsRNA viral.
18. Estrategias para el clonado de genes vegetales de interés agronómico. Clonado basado en mapeo genético. Técnicas de mutagénesis insercional en gran escala. Clonado basado en interacciones proteína-proteína. Genética reversa y otras técnicas utilizadas en el aislamiento y caracterización de nuevos genes.
19. Marcadores moleculares. Alosimas. RFLP, VNTR, AFLP, SCAR, RAPD. Generación y uso de genotipos segregantes. Líneas usadas para la construcción de mapas genéticos. Líneas isogénicas, autocruzamiento, retrocruzamiento, dihaploides, etc. "Bulk se-



gregant analysis". MapMaker 3.0 y mapeo de caracteres cuantitativos (QTLs) MapMaker/QTL. "Finger-printing". Aplicaciones al mejoramiento: retrocruzas asistidas.

20. Organización genómica y proyectos genoma en plantas superiores: el caso de *Arabidopsis thaliana*. Plantas de uso agrícola. Técnicas moleculares aplicadas al mapeo genómico en una planta modelo. Mapas genéticos y mapas físicos. Proyectos internacionales de secuenciación y centros de recursos. Análisis de bases de datos.
21. Pruebas de campo con plantas transgénicas. Establecimiento de riesgo en el caso de organismos genéticamente modificados. Diseño de normas de bioseguridad. Normativas de bioseguridad en Argentina. Liberación comercial de plantas transgénicas en nuestro país y en el mundo.
22. Técnicas de biotecnología animal: transferencia de embriones. Crioconservación de gametas y embriones. Conservación de germoplasma y su importancia en programas de mejoramiento genético. Sexado de semen por citometría de flujo. Producción *in vitro* de embriones. Sexado de embriones. Transplante de células germinales. Clonado. Técnicas de transplante nuclear. Aplicaciones de interés zootécnico.
23. Transgénesis de animales: Métodos. Microinyección. Vectores retrovirales. Transfección y clonado a partir de células embrionarias. Aplicaciones en farmacología y en producción pecuaria. Aspectos económicos. Proyectos genoma en especies de interés zootécnico.
24. Vacunas de uso veterinario. Vacunas a subunidades. Producción en baculovirus y en plantas. Desarrollo de inmunógenos a partir de microorganismos heterólogos y homólogos modificados: virus y bacterias. Desarrollo de inmunógenos contra el vector (hematófago) del patógeno. Desarrollo de inmunógenos a partir de DNA (vacunas génicas). Desarrollo de sistemas basados en fowlpoxvirus y en canarypoxvirus.
25. Impacto de la biotecnología en el diagnóstico. Comparación de métodos clásicos y moleculares: sensibilidad, especificidad, costo e implementación. Métodos: uso de sondas, PCR, inmunodiagnóstico empleando proteínas recombinantes. Perspectivas futuras: "biochips", etc. Algunos ejemplos.
26. Cuestiones asociadas a la propiedad intelectual en el campo de las nuevas agrobiotecnologías. Protección técnica y legal. El caso de los vegetales: patentamiento de genes y plantas. Convenio UPOV y registro de variedades vegetales. El caso de los animales: patentamiento de genes y de animales modificados genéticamente.



Trabajos Prácticos

1. Nociones de cultivo de tejidos y micropropagación

- Organogénesis de una especie ornamental
- Micropropagación de tabaco
- Embriogénesis somática de zanahoria

2. Transformación vegetal

- Transformación de tabaco mediante *Agrobacterium tumefaciens*
- Transformación de tabaco mediante biobalística

3. Ensayos de caracterización de plantas transformadas

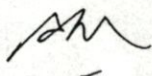
- Detección histoquímica de actividad β -glucuronidasa
- Detección de neomicina fosfotransferasa
- Detección de *Green Fluorescent Protein*
- Detección de un transgen por la técnica de PCR

4. Selección y observación de fenotipos transformados

- Plantas con resistencia a antibióticos
- Plantas con resistencia a herbicidas

5. Utilización de marcadores moleculares

- Utilización de RAPDs
- Utilización de microsatélites



Bibliografía

CLASE INTRODUCTORIA

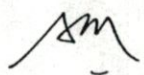
1. Meiri H. and Altman, A. Agriculture and agricultural biotechnology: development trends toward de 21st Century. En: "Agricultural Biotechnology" (Ed. A. Altman). pp. 1-17. Marcel Dekker, Inc. 1998.
2. Fedoroff, N. and Cohen. J. Plants and population: is there time? Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 96:5903-5907, 1999.
3. Alexandratos, N. World food and agriculture: outlook for the medium and longer term. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 96:5908-5914, 1999.
4. Dyson, T. World food trends and prospets to 2025. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 96:5929-5936, 1999.
5. Kishore, G.M. and Shewmaker, C. Biotechnology: enhancing human nutrition in developing and developed worlds. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 96:5968-5972, 1999.
6. Transgenic plants for tropical regions:some considerations about their development and their transfer to the small farmer. Herrera-Estrella, L. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 96:5978-5981, 1999.
7. Jaffe, W. La problemática del desarrollo de las agrobiotecnologías en América Latina y el Caribe. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Serie: Documentos de Programas / IICA No 23, 1991.
8. James, C. Global status of transgenic crops in 1997. ISAAA briefs No. 5. ISAAA, Ithaca, NY, pp. 31, 1997.
9. Trends in Biotechnology. Special Issue on plant product and crop biotechnology. Volume 13, No 9 (140), 1995.

APLICACIONES DEL CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES

1. Barz, W.; Reinhard, E. and M. H. Zenk (eds.). Plant tissue culture and its biotechnological application. Berlin: Springer-Verlag, 1977.
2. Conger, V. V (ed.). Cloning agricultural plants via *in vitro* techniques. Boca Raton, USA: CRC Press, 1981.
3. Evans, D. A.; Sharp, W.R.; Ammirato, P.V. and Y. Yamada (eds.). Handbook of plant cell culture. Vol 1, Techniques for propagation and breeding. New York: Macmillan, 1983.
4. Fujiwara, A. (ed.). Plant Tissue Culture. Tokyo: Japanese Association for Plant Tissue Culture, 1982.
5. Reinert, J and Bajaj, Y. P. S. (eds.). Applied and fundamental aspects of plant cell, tissue, and organ culture. Berlin: Springer-Verlag, 1977.
6. Roberts, L. W.; Gahan, P. B. and R. Aloni (eds.). Vascular differentiation and plant growth regulators. Heidelberg: Springer-Verlag, 1988.
7. Street, H. E. (ed.). Tissue culture and plant science. London: Academic Press, 1974.
8. Thorpe, T. A. (ed.). Frontiers of plant tissue culture. Calgary: IAPTC, 1978.
9. Thorpe, T. A. (ed.). Tissue culture: methods and applications in agriculture. New York: Academic Press, 1981.

CULTIVO DE CELULAS VEGETALES EN GRAN ESCALA

1. Kurtz, W.G. and Constabel, F. Production of secondary metabolites. En: Agricultural Biotechnology (Ed. Altman, A.) pp. 183-224, Marcel Dekker, Inc. 1998.
2. Scragg, A.H. Large-scale plant tissue culture. En: Agricultural Biotechnology (Ed. Altman, A.) pp. 225-249, Marcel Dekker, Inc. 1998.



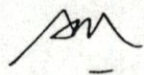
3. Scragg, A. Bioreactors for the mass cultivation of plant cells. En: Plant Biotechnology. Comprehensive Biotechnology. Second Supplement (Eds. Fowler, M., Warren, G. S. and Moo-Young, M.). pp. 45-62. Pergamon Press, 1992.
4. Williams, P. and Mavituna, F. Immobilized plant cells. En: Plant Biotechnology. Comprehensive Biotechnology. Second Supplement (Eds. Fowler, M., Warren, G. S. and Moo-Young, M.). pp. 63-78. Pergamon Press, 1992.
5. Fowler, M. and Stafford, A. Plant cell culture, process systems and product synthesis. En: Plant Biotechnology. Comprehensive Biotechnology. Second Supplement (Eds. Fowler, M., Warren, G. S. and Moo-Young, M.). pp. 79-97. Pergamon Press, 1992.
6. Yeoman, M. Techniques, characteristics properties, and commercial potential of immobilized Plant Cells. En: Cell culture and somatic cell genetics of plants (Ed. Constabel, F. and Vasil, I.). Vol 4. Academic Press, Inc, 1987.
7. Brodelius, P. The potential role of immobilization in plant cellbiotechnology. Trends in Biotechnology, 3:280-285, 1985

TRANSFORMACION GENETICA MEDIADA POR AGROBACTERIUM

1. Potrykus, I. Bilang, R., Futterer, J., Sautter, C. and Schrott, M. Genetic engineering of crop plants. En: Agricultural Biotechnology (Ed. Altman, A.) pp 119-159. Marcel Dekker Inc. 1998.
2. Sheng, J. and Citovsky, V. *Agrobacterium*-plant cell DNA transport: have virulence proteins, will travel. The Plant Cell, 8:1699-1710, 1996.
3. Walkerpeach C.R. and Velten, J. *Agrobacterium*-mediated gene transfer to plant cells: Cointegrate and binary vectors. In: Plant Molecular Biology Manual. 2nd. Edition. Gelvin, S. B. and Schilperoort, R. A. (Eds.). B1:1-19 Kluwer Academic Press, 1995.
4. Konz, C., Martini, N., Szabados, L., Hroudá, M., Bachmair, A. and Schell, J. Specialized vectors for gene tagging and expression studies. In: Plant Molecular Biology Manual. 2nd. Edition. Gelvin, S. B. and Schilperoort, R. A. (Eds.). B2:1-22 Kluwer Academic Press, 1995.
5. Mathis, N. L. and Hinchey M.A.W. *Agrobacterium* inoculation techniques for plant tissues. In: Plant Molecular Biology Manual. 2nd. Edition. Gelvin, S. B. and Schilperoort, R. A. (Eds.). B6:1-9 Kluwer Academic Press, 1995.
6. Angenon, G. Dillen W. and Van Montagu, M. Antibiotic resistance markers for plant transformation. In: Plant Molecular Biology Manual. 2nd. Edition. Gelvin, S. B. and Schilperoort, R. A. (Eds.). C1:1-13 Kluwer Academic Press, 1995.
7. Herrera-Estrella, L., León P., Olsson, O. and Teeri, T. Reporter genes for plants. n: Plant Molecular Biology Manual. 2nd. Edition. Gelvin, S. B. and Schilperoort, R. A. (Eds.). C2:1-32. Kluwer Academic Press, 1995.
8. Walden, R. and Wingender, R. Gene-transfer and plant-regeneration techniques. Trends in Biotechnology, 13:324-331, 1995.
9. Hooykas, J. and Beijersbergen, A.G.M. The virulence system of *Agrobacterium tumefaciens*. Annual Review of Phytopathology, 32:157-179, 1994.
10. Hooykas, P.J.J. and Schilperoort, R.A. *Agrobacterium* and plant genetic engineering. Plant Molecular Biology, 19:15-38, 1992.
11. Zambryski, P. Chronicles from the *Agrobacterium*-plant cell DNA transfer story. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 43:465-490, 1992.

VECTORES BASADOS EN VIRUS VEGETALES

1. Pogue, G., Lindbo, J., Dawson, W. and Turpen, T. Tobamoviruses transient expression vectors: tools in plant biology and high level expression of foreign proteins in plants. Plant Molecular Biology Manual, L4:1-27, 1998



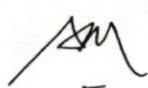
2. Scholthof, H., Scholthof, K.-B. and Jackson, A.O. Plant virus gene vectors for transient expression of foreign proteins in plants. *Annual Review of Phytopathology*, 34:299-323, 1996.
3. Kearney, C.M., Chapman, S.N., Turpen, T.H. and Dawson, W. High level expression in plants using RNA viruses as transient expression vectors. *Plant Molecular Biology Manual*, L1:1-16, 1995
4. Bisaro, D. and Sunter, G. Geminivirus mediated gene transfer. *Plant Molecular Biology Manual*, L2:1-21, 1995
5. Jupin, I. and Gronenborn, B. Caulimovirus mediated gene transfer. *Plant Molecular Biology Manual*, L3:1-12, 1995.
6. Timmermans, M.C.P. Das, O.P. and Messing J. Geminiviruses and their uses as extrachromosomal replicons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 45:79-112, 1994.

METODOS DE TRANSFERENCIA FISICA DEL MATERIAL GENETICO

1. Birch, R.G. Plant transformation: problems and strategies for practical application. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 48:297-326, 1997
2. Potrykus, I. Bilang, R., Futterer, J., Sautter, C. and Schrott, M. Genetic engineering of crop plants. En: *Agricultural Biotechnology* (Ed. Altman, A.) pp 119-159. Marcel Dekker Inc. 1998.
3. Christou, P. Transformation technology. *Trends in Plant Science*, 1:423-431, 1996.
4. Christou, P. Gene transfer to plants via particle bombardment. In: *Plant Molecular Biology Manual*. 2nd. Edition. Gelvin, S. B. and Schilperoort, R. A. (Eds.). A2:1-15 Kluwer Academic Press, 1995.
5. Frame, B.R., Drayton, P.R., Bagnall, S.V., Lewnau, C.J., Bullock, W.P., Wilson, H.M., Dunwell, J.M., Thompson, J.A. and Wang, K. Production of fertile transgenic maize plants by silicon carbide whisker-mediated transformation. *The Plant Journal*, 6:941-948, 1994.
6. Mountain Laursen, C., Krzyzek, R.A., Flick, C.E., Anderson, P.C. and Spencer T.M. Production of fertile transgenic maize by electroporation of suspension cells. *Plant Molecular Biology*, 24:51-61, 1994.
7. Hunold, R., Bronner, R. and Hahne, G. Early events in microprojectile development: cell viability and particle location. *The Plant Journal*, 5:593-604, 1994.
8. Christou, P. Genetic transformation of crop plants using microprojectile development. *The Plant Journal*, 2:275-281, 1992.
9. Potrikus, I. Gene transfer methods. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 42:205-225, 1991.
10. McElroy, D. and Brettell, R.I.S. Foreign gene expression in transgenic cereals. *Trends in Biotechnology*, 12:6268, 1994.
11. Sautter, C., Waldner, H., Neuhaus-Url, G., Galli, A., Neuhaus, G. and Potrikus, I. Micro-targeting: high efficiency gene transfer using a novel approach for the acceleration of micro-projectiles. *Bio/Technology*, 9:1080-1085, 1991.
12. Sanford, J. C. The biolistic process. *Trends in Biotechnology*, 6:299-302, 1988.

RESISTENCIA A VIRUS VEGETALES

1. Waterhouse, P.M., Smith, N. and Wang, M-B. Virus resistance and gene silencing: killing the messenger. *Trends in Plant Science*, 4:452-457, 1999.
2. Beachy, R. Mechanisms and applications of pathogen-derived resistance in transgenic plants. *Current Opinion in Biotechnology*, 8:215-220, 1997.
3. Baulcombe, D.C. Mechanisms of pathogen-derived resistance to viruses in transgenic plants. *Plant Cell*, 8:1833-1844, 1996.



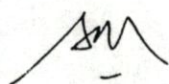
4. Dawson, W. D. Gene silencing and virus resistance: a common mechanism. *Trends in Plant Science* 1:107-108, 1996.
5. Prins, M. and Golbach, R. RNA-mediated virus resistance in transgenic plants. *Archives of Virology*, 141:2259-2276, 1996.
6. Lomonosoff, G. Pathogen-derived resistance to plant viruses. *Annual Review of Phytopathology*, 33:32-43, 1995.
7. Baulcombe, D. Novel strategies for engineering virus resistance in plants. *Current Opinion in Biotechnology* 5:117-124, 1994.
8. Wilson, M. Strategies to protect crop plants against viruses: Pathogen-derived resistance blossoms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:3134-3141, 1993.
9. Fitch, J. H. and Beachy, R. N. Genetically engineered protection against viruses in transgenic plants. *Annual Review of Microbiology*, 47:739-763, 1993.
10. Beachy, R. N., Loesch-Fries, S. and Tumer, N. Coat protein-mediated resistance against virus infection. *Annual Review of Phytopathology*, 28:451-474, 1990.

RESISTENCIA A BACTERIAS

1. Mourgues, F., Brisset M-N. and Chevreu, E. Strategies to improve plant resistance to bacterial diseases through genetic engineering. *Trends in Biotechnology*, 16:203-210, 1998.
2. Shah, D. Genetic engineering for fungal and bacterial diseases. *Current Opinion in Biotechnology*, 8:208-214, 1998.
3. Wu, G., Shortt, B.J., Lawrence, E.B., Levine, E.B., Fitzsimmons, K.C., Sha, D.M. Disease resistance conferred by expression of a gene encoding H₂O₂-generating glucose oxidase in transgenic potato plants. *Plant Cell*, 7:1357-1368, 1995.
4. Doring, K., Porsh, P., Fladung, M. and Lörz Hertz. Transgenic potato plants resistant to the phytopathogenic bacterium *Erwinia carotovora*. *The Plant Journal*, 3:587-598, 1993.
5. de la Fuente-Martinez, J.M., Mosqueda-Cano, G., Alvarez-Morales, A. and Herrera-Estrella, L. Expression of a bacterial phaseolotoxin-resistant ornithyl transcarbamylase in transgenic tobacco confers resistance to *Pseudomonas syringae* pv. phaseolicola. *Bio/ Technology* 10:905-909, 1992.

RESISTENCIA A HONGOS

1. Lorito, M., Woo, S.L., García Fernández, I., Colucci, G., Harman, G.E., Pintor-Toro, J.A., Filippone, E., Muccifora, S., Lawrence, C., Zoina, A., Tuzun, S. and Scala, F. Genes from mycoparasitic fungi as a source for improving plant resistance to fungal pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U.S.A.*, 95:7860-7865, 1998.
2. Shah, D. Genetic engineering for fungal and bacterial diseases. *Current Opinion in Biotechnology*, 8:20-214, 1997.
3. Görlach, J., Volrath, S., Knauf-Beiter, G., Hengy, G., Beckhove, U., Kogel, K.H., Oostendorp, M., Staub, T., Ward, E., Kessmann, H. and Ryals, J. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *The Plant Cell*, 8:629-643, 1996.
4. Wu, G., Shortt, B.J., Lawrence, E.B., Levine, E.B., Fitzsimmons, K.C., and Shah, D. Disease resistance conferred by expression of a gene encoding H₂O₂-generating glucose oxidase in transgenic potato plants. *The Plant Cell*, 7:1357-1368, 1996.
5. Diehn, S.H., De Rocher, E.J. and Green, P. Problems that can limit the expression of foreign genes in plants: lessons to be learned from Bt toxin genes. *En: Genetic Engineering (Ed. Setlow, J.K.) Vol 18, pp. 83-99, 1996.*
6. Jach, G., Gornhardt, B., Mundy, J., Logemann, J. Pinsdorf, E. Leah, R., Schell, J. and Maas, C. Enhanced quantitative resistance against fungal disease by combinatorial



expression of different barley antifungal proteins un transgenic tobacco. The Plant Journal, 8:97-109, 1995.

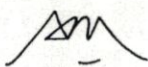
7. Terras, F.R.G., Eggemont, K., Kovaleva, V., Raikhel, N.V., Osborn, R.W., Kester, A., Rees, S.B. Torrekens, S. Van Leuven, F., Vanderleyden, J., Cammue, B.P. and Broekaert, W.F. Small cysteine-rich antifungal proteins from radish: their role in host defense. The Plant Cell, 7:573-588, 1995.
8. Zhu, Q., Maer, E.A., Masoud, S. Dixon, R.A., Lamb, C.J. Enhanced protection against fungal attack by constitutive coexpression of chitinase and glucanase genes in transgenic tobacco. Bio/Technology, 12:807-812, 1994.
9. Oppenheim, A.B. and Chet, I. Cloned quitinases in fungal plant-pathogen control strategies. Trends in Biotechnology, 10:392-394, 1992.

RESISTENCIA A HERBICIDAS

1. Saroha, M.K. Sridhar, P. and Malik, V.S. (1998). Glyphosate tolerant crops: genes and enzymes. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 7:65-72.
2. Gressel, J. (1998) Biotechnology of weed control. En: Agricultural Biotechnology (A. Altman Ed.), pp. 295-325. Marcel Dekker.
3. Coleman J., Blake-Kalff, M. and Davies, E. (1997). Detoxification of xenobiotics by plants: chemical modification and vacuolar compartmentation. Trends in Plant Science 4:144-151.
4. Kreuz, K., Tommasini, R. and Martinoia E. (1996) Old enzymes for a new job. Plant Physiology, 111:349-353.
5. Marrs, K. (1996). The functions and regulation of glutathione s-transferases in plants. Annual Re view of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 47:127-158.
6. Holt J. , Powles, S. and Holtum, J. (1993). Mechanisms and agronomic aspects of herbicide resistance. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 44: 203-229.
7. Padgett, S.R., della Gioppa, G., Shah, D.M., Fraley, R.T. and Kishore, G.M. (1989) Selective herbicide tolerance through protein engineering. En: Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants (I. Vasil Ed.). Vol. 6, pp 441-476. Academic Press.

RESISTENCIA A INSECTOS Y NEMATODOS

1. de Maag, R. A., Bosch, D. and Stiekema, W. *Bacillus thuringiensis* toxin-mediated insect resistance in plants. Trends in Plant Science, 4:9-13, 1999.
2. Jung, C., Cai, D., Kleine, M. Engineering nematode resistance in crop species. Trends in Plant Science. 3:266-271, 1998.
3. Amick Dempsey, D. Silva, H. and Klessig, F. Engineering disease and pest resistance in plants. Trends in Microbiology, 6:54-60, 1998.
4. Kozziel, M., Carozzi, N. B. and Warren, G.W. Transgenic plants for the control of insect pests. En: Agrobiotechnology (Ed. Altamn), pp.283-294, Marcel Dekker, 1998
5. Schuler, T.H., Poppy, G.M., Kerry, B.R. and Denholm, I. Insect-resistant transgenic plants. Trends in Biotechnology, 16:167-175,1998
6. Peferoen, M. Progress and prospects for field use of *Bt* genes in crops. Trends in Biotechnology, 15:173-177, 1997.
7. Aldstad, D.N. and Andow, D.A. Managing the evolution of insect resistance to transgenic plants. Science, 268:1894-1896, 1995.
8. Bravo, A. y Quinteros, R. Importancia y potencial del *Bacillus thuringiensis* en el control de plagas. REDBIO-FAO, 56 pp., 1993.
9. Vaeck, M., Reynaerts, A., Höfte, H. Protein engineering in plants: expression of *Bacillus thuringiensis* insecticidal protein genes. En: Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants (Ed. Vasil, I. and Schell, J.). Vol. 6, pp. 425-439, Academic Press, 1989.

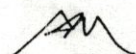


INGENIERIA METABOLICA

1. Töpfer, R. and Martini, N. Engineering of crop plants for industrial traits. En: Agricultural Biotechnology (A. Altman Ed.), pp. 161-181. Marcel Dekker, 1998.
2. Boudet, A.M. A new view in lignification. Trends in Plant Science, 3:67-71, 1998.
3. McCaskill, D. and Croteau, R. Some caveats for bioengineering terpenoid metabolism in plants. Trends in Biotechnology, 16:349-355, 1998.
4. Raskin, I., Smith, R.D. and Salt, D.E. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment. Current Opinion in Biotechnology, 8:221-226, 1997.
5. Herbers K. and Sonnewald U. Manipulating metabolic partitioning in transgenic plants. Trends in Biotechnology, 14 :198-205, 1996
6. Bohnert, H. and Jensen, R. Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. Trends in Biotechnology, 14: 89-97, 1996.
7. Campbell, M. and Sederoff, R. Variation in lignin content and composition. Plant Physiology, 110:3-13, 1996.
8. Rees T. Prospects of manipulating plant metabolism. Trends in Biotechnology 13:375-378, 1995
9. Mol J.N.M., Holton T.A. & Koes R.E. Floriculture : genetic engineering of commercial traits. Trends in Biotechnology, 13:350-355, 1995.
10. Salt, D., Blylock, M., Kumar, N., Dushenkov, D., Ensley, B.D, Chet, I. and Raskin, I. Bio/Technology. 13:468-474, 1995.
11. Habben, J. E. and Larkins, B.A. Genetic modification of seed proteins. Current Opinion in Biotechnology, 6:171-174, 1995.
12. Stitt, M. Manipulation of carbohydrate partitioning. Current Opinion in Biotechnology, 5:137-143, 1994.
13. Kinney, A. Genetic modification of the storage lipids of plants. Current Opinion in Biotechnology, 5:144-151, 1994.
14. Theologis, A. Control of ripening. Current Opinion in Biotechnology, 5:152-157, 1994.
15. van der Meer I.M., Ebskamp M.J.M., Visser R.G.F., Weisbeek P.J. and Smeekens S.C.M. Fructan as a new carbohydrate sink in transgenic potato plants. The Plant Cell, 6:561-570, 1994.
16. Visser and Jacobsen E. Towards modifying plants for altered starch content and composition. Trends in Biotechnology, 11:63-68, 1993.

LAS PLANTAS COMO BIOREACTORES

1. Pueyo, J.J. and Hiatt, A. Production of foreign compounds in transgenic plants. En: Agricultural Biotechnology (A. Altman Ed.), pp. 251-261. Marcel Dekker, 1998.
2. Miele, L. Plants as bioreactors for biopharmaceuticals: regulatory considerations. Trends in Biotechnology, 15:45-50, 1997.
3. Goddijn O.J.M. and Pen, J. Plants as bioreactors. Trends in Biotechnology, 13:379-387, 1995.
4. Mason, H.S. and Amtzen, C.J. Transgenic Plants as vaccine production systems. Trends in Biotechnology, 13:388-392, 1995.
5. Knauf, V.C. Transgenic approaches for obtaining new products from plants. Current Opinion in Biotechnology, 6:165-170, 1995.
6. Poirier, Y., Nawrath, C. and Somerville, C. Production of polyhydroxyalkanoates, a family of biodegradable plastics and elastomers, in bacteria and plants. Bio/Technology, 13:142-150, 1995.
7. Nawrath, C. Poirier, Y. and Somerville, C. Plant polymers for biodegradable plastics: cellulose, starch and polyhydroxyalkanoates. Molecular Breeding, 1:105-122, 1995,
8. Conrad, U. and Fiedler, U. Expression of engineered antibodies in plant cells. Plant Molecular Biology, 26:1023-1030, 1994.



9. Krebbers, E. and van de Kerckhove. Production of peptides in plant seeds. *Trends in Biotechnology*, 8:1-3, 1990.
10. Flores, H.E., Hoy, M.W. and Pickard, J.J. Secondary metabolites from root cultures. *Trends in Biotechnology*, 5:64-69, 1987.
11. Scholthof, H.B. and Scholthof, K-B. Plant virus gene vectors for transient expression of foreign proteins in plants. *Annual Review of Phytopathology*, 34:299-323, 1996.
12. Johnson, J.E. Lin, T. and Lomonosoff, G. Presentation of heterologous peptides on plant viruses: Genetics, structure and function. *Annual Review of Phytopathology*, 35:67-86, 1997.

DETECCION Y CARACTERIZACION DE FITOPATOGENOS

1. Plant Pathology; fourth edition. George N. Agrios, Academic Press (1997). Capítulo 1
2. Patología Vegetal. Sociedad Española de Fitopatología (1996). Eds. Llácer; López; Trapero y Bello Capítulos: 6, 7, 8 y 17.
3. Plant Virology, Third Edition (1991). R.E.F. Matthews. Academic Press, Inc. Capítulo 2

BIOTECNOLOGIA ALGAL

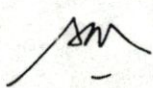
1. Bird, K.T. Bourdina, K.S. and Bush, W.S. Marine algae as a tool for bioremediation of marine ecosystems. En: *Agricultural Biotechnology* (A. Altman Ed.), pp. 601-614. Marcel Dekker, 1998.
2. Arad, S. and Spharim, I. Production of valuable products from microalgae: an emerging agroindustry. En: *Agricultural Biotechnology* (A. Altman Ed.), pp. 629-643. Marcel Dekker, 1998.

PROYECTOS GENOMA DE PLANTAS

1. Bouchez, D. and Hofte, H. Functional Genomics in Plants. *Plant Physiology*, 118: 725-732, 1998.
2. Craig Venter, J.; Adams, M.D.; Granger G. S.; Kerlavage, A. r.; Hamilton, O. S. and Hunkapiller, M. Shotgun Sequencing of the Human Genome. *SCIENCE*, vol. 280: 1540-1541, 1998.
3. Somerville, C. and Somervilles, Sh. Plant Functional Genomics. *SCIENCE*, vol. 285: 380-383, 1999.
4. The EU Arabidopsis Genome project: Bevan, M. *et al.* Analysis of 1.9 Mb of contiguous sequence from chromosome 4 of *Arabidopsis thaliana*. *NATURE*, vol. 391: 485-488, 1998.
5. Winkler, R. G. *et al.* Systematic reverse genetics of transfer DNA-tagged lines of Arabidopsis. *Plant. Physiology* 118: 743-750, 1998

MARCADORES MOLECULARES

1. Moahn, M., Nair, S., Bhawgwat, A. Krishna, T.G., Yano, M., Bhatia, C.R. and Sasaki, T. Genome mapping, molecular markers and marker assisted selection in crop plants. *Molecular Breeding*, 3:87-103, 1997.
2. Tanksley, S.D., Ganai, M.W. and Martin, G.B. Chromosome landing: a paradigm for map-based gene cloning in plants with large genomes. *Trends in Genetics*, 11:63-68, 1995.
3. Michelmore, R. Isolation of disease resistance genes from crop plants. *Current Opinion in Biotechnology*, 6:145-152, 1995.
4. Tanksley, S.D. Mapping polygenes. *Annual Review of Genetics*, 27:205-233, 1993.
5. Lander, E.S. and Botstein, D. Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics*, 121:185-199, 1989.



6. Tanksley, S.D., Young, N.D., Paterson, A.H. and Bonierbale, M.W. RFLP mapping in plant breeding: new tools for an old science. *Biotechnology*, 7:257-264, 1989.
7. Lander, E.S., Green, P., Abrahamson, J., Barlow, A., Daly, M., Lincoln, S. and Newburg, L. MAPMAKER: An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. *Genomics*, 1:174-181, 1987.

LIBERACION A CAMPO DE PLANTAS TRANSGENICAS

1. Guías para la liberación en el medio ambiente de organismos modificados genéticamente. Programa II: Generación y Transferencia de Tecnología. IICA. Organización de Estados Americanos. Organismo Internacional de Epizootias. 1991.
2. James, C. Global status of transgenic crops in 1997. ISAAA Briefs. No5, 1997.

TECNICAS DE BIOTECNOLOGIA ANIMAL Y TRANSGENESIS ANIMAL

1. Eyestone, W.H. Production and breeding of transgenic cattle using In vitro embryo production technology. *Theriogenology*, 51:509-517, 1999.
2. Tatham, B. Embryo manipulation for biotechnology in domestic animals. En: *Agricultural Biotechnology* (A. Altman Ed.), pp. 407-438. Marcel Dekker, 1998.
3. Bondioli, K.R. and Wall, R. Transgenic livestock. En: *Agricultural Biotechnology* (A. Altman Ed.), pp. 453-471. Marcel Dekker, 1998.
4. First, N.L., and Bremel, R.D. Transgenic dairy animals for production of novel proteins in milk. En: *Agricultural Biotechnology* (A. Altman Ed.), pp. 473-482. Marcel Dekker, 1998.
5. Cibelli, J.B., Stice, S.L., Golueke, P.J., Kane, J.J., Jerry, J., Blackwell, C., Ponce de Leon, F.A., and Robl, J.M. Cloned transgenic calves produced from nonquiescent fetal fibroblasts. *Science*, 280:1256-1258, 1998.
6. Janne, J., Alhonen, L., Hyttinen, J.M., Peura, T., Tolvanen, M., and Korhonen, V.P. Transgenic bioreactors. *Biotechnology Annual Review*, 4:55-74, 1998.
7. Wilmut, I., Schnieke, A.E., McWhir, J., Kind, A.J., and Campbell, K.H.S. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature*, 385:810-813, 1997.
8. Dobrinsky, J.R. Cellular approach to cryopreservation of embryos. *Theriogenology*, 45:17-26, 1996.
9. Campbell, K.H.S., Loi, P., Otaegui, P.J., and Wilmut, I. Cell cycle co-ordination in embryo cloning by nuclear transfer. *Reviews of Reproduction*, 1:40-46, 1996.
10. Johnson, L.A., Cran, D.G., and Polge, C. Recent advances in sex preselection of cattle: Flow cytometric sorting of X- & Y-chromosome bearing sperm based on DNA to produce progeny. *Theriogenology*, 41:51-56, 1994.

VACUNAS DE USO VETERINARIO

1. Montgomery et al. DNA vaccines. *Pharmacology and Therapeutics*, 74:195-205, 1997.
2. Jackwood, M.W. Current and future recombinant viral vaccines for poultry. *Advances in Veterinary Medicine*, 41:517-122, 1999.
3. Yamanouchi, K. et al. New approaches to the development of virus vaccines for veterinary use. *Reviews in Science and Technology*, 17:641-653, 1998.
4. Karaca, K. et al. Recombinant fowlpox viruses coexpressing hicken type I IFN and Newcastle disease virus HN and F genes: influence of IFN on protective efficacy and humoral responses of chickens following in ovo or post-hatch administration of recombinant viruses. *Vaccine*, 16: 1496-14503, 1998.
5. Ramsay, A.J. et al. DNA vaccination against virus infection and enhancement of antiviral immunity following consecutive immunization with DNA and viral vectors. *Immunology and Cell Biology*, 75:382-388, 1997.

