



ARBOR Ciencia, Pensamiento y Cultura

Vol. 190-768, julio-agosto 2014, a152 | ISSN-L: 0210-1963

doi: <http://dx.doi.org/10.3989/arbor.2014.768n4006>

BIOTECNOLOGÍA ESPAÑOLA / SPANISH BIOTECHNOLOGY

BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA

AGRICULTURAL BIOTECHNOLOGY

Paloma Melgarejo

Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA)
melgar@inia.es

Ignacio Romagosa

Instituto Agronómico Mediterráneo de Zaragoza (IAMZ-CIHEAM)
romagosa@iamz.ciheam.org

Núria Duran

Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA)
nduran@ivia.es

Cómo citar este artículo/Citation: Melgarejo, P.; Romagosa, I. y Durán, N. (2014). "Biotecnología agrícola". *Arbor*, 190 (768): a152. doi: <http://dx.doi.org/10.3989/arbor.2014.768n4006>

Copyright: © 2014 CSIC. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-Non Commercial (by-nc) Spain 3.0.

Recibido: 9 junio 2014. Aceptado: 14 julio 2014.

RESUMEN: La domesticación de plantas, primera manipulación genética de los organismos vivos y origen de la Agricultura, representa la mayor contribución de la biotecnología al desarrollo de la humanidad. Los retos a superar en las próximas décadas para el sector agrario están determinados por el aumento demográfico y la demanda de materias primas para alimentación humana y animal, por las preferencias en el consumo, por aspectos medioambientales y legales, y por la globalización de la economía. Las aplicaciones de la biotecnología agrícola van a jugar un papel inquestionable en el logro de estos retos. Nuestro país posee unos buenos grupos en investigación básica y aplicada, con amplios conocimientos de la agrobiotecnología. El traslado de las necesidades del sector empresarial a la investigación, coordinando los departamentos de I+D+I de las empresas y los grupos de investigación de las universidades y organismos públicos de investigación es una finalidad a conseguir en el futuro.

ABSTRACT: The domestication of plants can be considered as the first genetic manipulation of living organisms and it is associated with the origin of agriculture, and represents the major contribution of biotechnology to the development of mankind. The challenges the agricultural sector faces in the coming decades are population growth and the increasing demand for raw materials for food, feed, as well as the consumer preferences, environmental and legal aspects, and the overall globalisation of the economy. The agricultural biotechnology applications will undoubtedly play a role in meeting these challenges. Spain has competent scientific groups devoted to basic and applied research, with a wide knowledge on agricultural biotechnology. The transfer of the business sector needs to the scientific field, coordinating the R&D companies and research groups from universities and public research organisms is an objective to be attained in the future.

PALABRAS CLAVE: Biotecnología; agricultura; mejora genética; protección de cultivos; cultivos *in vitro*; cultivos transgénicos.

KEYWORDS: Biotechnology; agriculture; plant breeding; crop protection; *in vitro* culture; transgenic crops.

INTRODUCCIÓN

Aunque la Biotecnología moderna está basada en el conocimiento científico, no debemos olvidar que, mucho antes de que este se desarrollara como lo entendemos hoy, hubo actividades empíricas con sentido plenamente biotecnológico. El nacimiento y desarrollo de la agricultura puede considerarse como la primera biotecnología: liberó al hombre de la necesidad continua de cazar y de recolectar, facilitó el acceso a los alimentos propiciando el aumento de la población mundial y cambió la vida de los habitantes del planeta que se convirtieron en sedentarios y diversificaron sus actividades. En el Neolítico, a través de la manipulación de unos pocos genes con efectos fenotípicos importantes, se domesticaron un gran número de cultivos alimentarios, dando origen a la agricultura. Fueron necesarios dos millones de años para convertir al hombre en *Homo sapiens* y solo unos pocos milenios, gracias a la especialización y al desarrollo social fruto de la agricultura, para poder empezar a comprender nuestro planeta.

La mejora vegetal reproduce los mecanismos evolutivos de generación de variabilidad, complementando la selección natural por la realizada consciente o inconscientemente por las personas, teniendo como fin la obtención de cultivares más productivos, adaptados a distintas condiciones de cultivo y resistentes o tolerantes a estreses bióticos y abióticos y que mejor satisfagan las necesidades humanas. Alonso de Herrera publicó en 1513 la "*Agricultura General*", primer tratado moderno de esta disciplina que incorpora el saber romano y andalusí, en el que muestra que muchos métodos de mejora actuales se desarrollaron en el cambio de nuestra era. De hecho muy pocos cultivos importantes, una excepción muy significativa es la remolacha azucarera, tienen un origen reciente.

Y es precisamente la agricultura y en concreto el cultivo de plantas de una misma especie, lo que hoy denominamos monocultivo, lo que ha conllevado el desarrollo de plagas y enfermedades, ya que tanto insectos como agentes patógenos (hongos, bacterias y virus) se abastecieron de estos para su propio beneficio. Vale la pena mencionar también otros aspectos de la Biotecnología antigua como son la propagación vegetativa y en especial el injerto, que se desarrollaron hace miles de años, y que propiciaron el cultivo de plantas genéticamente idénticas. Todo ello conllevó ventajas productivas pero también nuevos retos en lo que se refiere al control de plagas y enfermedades.

Hoy día los avances biotecnológicos se encuentran estrechamente ligados a la generación de conocimiento como resultado de la investigación científica, la investigación finalista, la experimentación, y la transferencia de tecnologías al sector productivo. Por otra parte la Biotecnología Vegetal ha permitido evolucionar desde la estricta producción de alimentos a aspectos más amplios que se contemplan en lo que hoy denominamos Bioeconomía.

Los retos a superar en las próximas décadas para el sector agrario van a estar determinados por el aumento demográfico que va a incrementar la demanda de materias primas principalmente para alimentación humana y animal, por las preferencias en el consumo, por aspectos medioambientales y legales, y por aspectos relacionados con la globalización de la economía. El principal objetivo de la agricultura es proporcionar alimentos suficientes y de calidad para la población. En el año 2011 la ONU estimó que la población mundial alcanzó la cifra de 7.000 millones de habitantes que serán de 9.000 millones en 2050 con un mayor nivel de renta. Se necesitará aumentar en un 70% la producción para poder alimentar a esta población.

El incremento de la producción al ritmo requerido supone varios problemas. Por una parte los recursos son limitados, principalmente en lo que se refiere a tierras de cultivo y agua para riego. Según la Plataforma de Agricultura Sostenible el 55% de la tierra habitable y el 70% del agua dulce se utilizan para la agricultura. Además, los pronósticos apuntan a que, debido al cambio climático, las sequías, inundaciones y variaciones térmicas que provocan grandes pérdidas en la agricultura serán cada vez más frecuentes y graves. Finalmente, las técnicas de cultivo utilizadas actualmente conducen a una sobreexplotación de los terrenos cultivables, disminuyendo aún más su disponibilidad. Por ello, la sostenibilidad es un requisito recogido en todas las agendas políticas de los principales países y, por supuesto, de la Unión Europea. La sostenibilidad incluye el respeto por el medio ambiente, mediante la reducción de las emisiones de CO₂ y la conservación de los recursos naturales, ayudando a los agricultores y ganaderos a continuar siendo competitivos, conservando el medio rural para las generaciones venideras y haciendo frente a los requerimientos de alimentos, piensos y materias primas para la sociedad. Pero no solo es necesario proveer alimentos en cantidad suficiente, también es fundamental que estos alimentos sean inocuos y nutritivos: es necesario obligar y vigilar que las prácticas agrícolas cumplan con unos requisitos legales estrictos, garantizando la seguridad desde la granja a la mesa.

Al mismo tiempo, los consumidores de los países desarrollados y las economías emergentes están cada vez más informados y más concienciados por su salud, lo que les ha hecho variar sus hábitos de consumo. Se ha producido un aumento en la demanda de alimentos más saludables o incluso que permitan tratar o prevenir la aparición de ciertas enfermedades. Es el caso de los alimentos ricos en determinados compuestos bioactivos, o que no contengan determinados compuestos responsables de la aparición de alergias o intolerancias.

APLICACIONES DE LA BIOTECNOLOGÍA EN LA AGRICULTURA

Biotecnología y protección de cultivos

Dentro del ámbito de la protección de cultivos la biotecnología es un ámbito dinámico sin el cual no puede llevarse a cabo una agricultura competitiva. Las aplicaciones biotecnológicas contemplan estrategias dirigidas a la detección de patógenos, la obtención y mantenimiento de cultivares libres de patógenos, así como nuevas estrategias para el control de enfermedades para las que no existen vías convencionales (Llácer *et al.*, 1996). En este sentido, la ingeniería genética ofrece alternativas basadas en genes capaces de potenciar aspectos relativos a reacciones de hipersensibilidad, resistencia sistémica adquirida, etc.

Tal como ya hemos indicado, el monocultivo en parcelas más o menos extensas y el uso de plantas genéticamente idénticas mediante la siembra de semillas híbridas y la propagación vegetativa mediante el enraizamiento de estacas o el injerto, ha propiciado que los patógenos puedan llegar a causar epidemias devastadoras. La identificación y el control de enfermedades en general y en particular las producidas por agentes transmisibles por injerto sí exigen aproximaciones complejas.

El conocimiento generado en el ámbito de la serología y en particular el estudio de los anticuerpos o inmunoglobulinas que intervienen en la respuesta inmunitaria de los vertebrados ha sido clave para el desarrollo de métodos para el diagnóstico, detección y caracterización de virus vegetales (Pallas *et al.*, 2008). La primera vía de producción de anticuerpos consistió en la inmunización de animales (conejos, cabras,...) mediante la inyección intravenosa de antígenos (virus purificados), que al desencadenar la respuesta inmune daba lugar a la producción de antisuero con anticuerpos cuya especificidad en sus inicios resultó variable y a veces irrepetible. A pesar de ello, esta aproximación

supuso y todavía supone un avance importante para poder analizar gran cantidad de muestras en prospecciones, control de viveros y programas de saneamiento y cuarentena. Sin embargo esto fue solo el principio de una serie de avances biotecnológicos, de entre los que cabe destacar el desarrollo de técnicas inmunoenzimáticas (ELISA) y la utilización de la tecnología de hibridomas. ELISA es la técnica más comúnmente empleada con numerosas variaciones que, unidas a la posibilidad de automatizar todas sus fases, ha permitido realizar ensayos de detección de forma económica, rápida y a gran escala. La sensibilidad y especificidad de esta técnica se ha ido mejorado mediante la producción de anticuerpos monoclonales específicos para la detección de proteínas estructurales como la proteína de la cápsida, así como proteínas no estructurales para identificar distintos tipos de aislados o razas de un virus determinado. Asimismo la tecnología de hibridomas ha supuesto otro avance en el sentido de permitir la obtención de anticuerpos específicos y, además, producirlos de forma repetible, ya que el hibridoma puede multiplicarse indefinidamente produciendo y secretando al medio de cultivo moléculas de anticuerpo idénticas. Dicha tecnología se mejoró mediante la tecnología de anticuerpos recombinantes basada en la amplificación y clonado de las secuencias que codifican los genes de los anticuerpos y su expresión en bacterias lo cual ha permitido producir reactivos útiles para el diagnóstico. Estas tecnologías se aplican ya hoy para todos los organismos patógenos, no solo a virus y viroides.

En la actualidad nos encontramos frente a una segunda revolución en lo que se refiere al desarrollo de técnicas de detección (Pallás *et al.*, 2008). Se trata de los métodos basados en el análisis de ácidos nucleicos que se inició después de descubrirse que la información genética almacenada en el DNA (en el caso de organismos superiores, hongos, nematodos, bacterias, etc.) o en el RNA (en el caso de determinados virus y viroides). Dado que la mayoría de virus vegetales tienen un genoma de RNA bicatenario o monocatenario (de sentido positivo o negativo), durante su ciclo replicativo se generan cadenas de RNA complementarias a la genómica, ya sea del genoma completo o de varios fragmentos del mismo. Como las plantas carecen de este tipo de RNAs bicatenarios, su aislamiento y análisis ha constituido un método de diagnóstico que ha permitido detectar la presencia de virus incluso en el caso de desconocerse su naturaleza y características. Sin embargo con la disponibilidad de información acerca de un número creciente de virus, este tipo de técnicas han sido sustituidas por

la hibridación molecular utilizando sondas específicas y por distintas versiones de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

La PCR que consiste en producir múltiples copias de un segmento de DNA se ha convertido en una herramienta básica con multitud de aplicaciones. La aplicación de la PCR desarrollada por K.B. Mullis se popularizó sobre todo después del descubrimiento de un tipo de DNA polimerasa termoestable (polimerasa *Taq*) producida por la bacteria *Thermus aquaticus* y descubierta por T.D. Brock. Ello ha supuesto una simplificación notable del método así como su automatización. Actualmente es una herramienta de gran utilidad y con un sinnúmero de aplicaciones. Una de estas aplicaciones es la denominada reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) que permite generar DNA mediante la retranscripción de una hebra de RNA que posteriormente es amplificada mediante PCR convencional. Esta aproximación es altamente sensible pues permite detectar moléculas de RNA aunque se encuentren en un número de copias muy bajo y se está empleando para la detección molecular de genes, la cuantificación de la expresión génica y para estudiar el genoma de virus de ARN.

La PCR y la RT-PCR se están aplicando como método de detección y caracterización de organismos con genomas de DNA, como bacterias y hongos, así como virus y viroides con genomas de RNA. En este sentido se han desarrollado multitud de variantes como la inmunocaptura-PCR, *nested* y *heminested* RT-PCR, PCR cooperativa (Co-PCR), multiplex nested PCR, PCR cuantitativa a tiempo real entre otras. Recientemente, la secuenciación masiva (*deep-sequencing*) está abriendo nuevas perspectivas con muchas aplicaciones.

Biotecnología y mejora genética vegetal

Históricamente, las actividades desarrolladas en esta disciplina, pueden dividirse en pre-mendelianas y, una vez redescubiertas las leyes de Mendel en post-mendelianas. Como ciencia, la Mejora Vegetal depende por tanto de los principios genéticos que explican la herencia, de sus leyes que aportan un factor de predictibilidad y de las prácticas agronómicas necesarias para el cultivo de los nuevos genotipos que se puedan desarrollar. Los incrementos en rendimiento fruto del conocimiento genético han sido espectaculares. En este último siglo la producción vegetal en los países más desarrollados se ha doblado en cultivos tan importantes como trigo, arroz, soja y patata y cuadruplicado en maíz. Estos aumentos se han conseguido por la conjunción de mejores variedades y técnicas

de cultivo, estimándose que la manipulación genética ha contribuido en un 50% a los elevados incrementos de rendimientos de las últimas décadas.

A lo largo de los últimos decenios han cambiado las técnicas que se aplican para la mejora de los cultivos, pero no los principios que la sustentan. En el pasado siglo se fueron incorporando sucesivamente nuevas tecnologías que permitieron profundizar en la mejora de los cultivos. Entre ellas cabe destacar los cruzamientos interespecíficos, la micropropagación y el cultivo *in vitro*, descrito en el siguiente apartado, la poliploidía, la mutagénesis, métodos cuestionados originalmente y que actualmente ya se consideran convencionales. En la actualidad, la mejora genética se encuentra en una fase de transición en la que los métodos tradicionales siguen estando muy presentes en el núcleo central de sus actividades, pero en el que la aplicación de los nuevos avances celulares, moleculares, ómicos e informáticos está permitiendo crecimientos muy significativos.

La mecanización y la informática han permitido que el número de parcelas de ensayo por miembro de un equipo de mejora de cereales haya pasado en cincuenta años de poco más de 500 a más de 10.000. Esto ha permitido aumentar los tamaños poblacionales y las intensidades de selección, con las ganancias genéticas que ello comporta. Paralelamente el empleo de marcadores moleculares y las nuevas técnicas de secuenciación está permitiendo el análisis, disección y manipulación de caracteres fenotípicos de herencia compleja. Frente a unas ganancias genéticas de unos pocos puntos porcentuales obtenidos mediante métodos convencionales, las nuevas técnicas moleculares prometen potenciales espectaculares. Un reciente ejemplo paradigmático es la mejora del contenido en carotenos en grano de maíz llevado a cabo por dos grupos distintos utilizando técnicas moleculares basadas en la variación natural y en la obtención de variedades transgénicas. En el primer caso, el grupo del Prof. Ed Buckler de la Universidad de Cornell fue capaz de multiplicar por tres el contenido en pro-vitamina A (Harjes *et al.*, 2008). Paralelamente, el grupo del Prof. Paul Christou de ICREA y la Universidad de Lleida, mediante la obtención de plantas transgénicas que modificaban distintos genes de una misma ruta metabólica incrementó el contenido de β -carotenos más de 150 veces (Naqvi *et al.*, 2009).

Las tecnologías -ómicas son tecnologías de aplicación horizontal que permiten explorar la variabilidad natural desde distintas aproximaciones y conocer el funcionamiento de los seres vivos desde sus diferen-

tes niveles (fisiológico, tisular, celular y molecular) y pueden aplicarse en distintos campos, desde la salud hasta la agricultura o los sectores industrial o energético. La cantidad de datos que producen estas tecnologías hacen imprescindible el desarrollo de herramientas que permitan su análisis. La bioinformática sigue siendo una tecnología crítica. Actualmente la disminución de costes en secuenciación va paralela al incremento de necesidades de almacenamiento y análisis de los datos, por lo que resulta probable en un futuro próximo que la secuenciación resulte más económica que los costes asociados al mero almacenaje de la información producida. La cantidad de información que deberá manejarse una vez que concluyan los distintos proyectos que se encuentran en marcha para explorar distintas especies, desde distintas aproximaciones, hará que la información que se genere sea de tal magnitud que haga casi imposible su manejo. Así, es necesario el desarrollo de herramientas o algoritmos que permitan el almacenamiento, integración y tratamiento de los datos procedentes del uso de estas tecnologías, y su traducción en resultados que puedan ser utilizados por los investigadores.

Los avances producidos en los últimos años han sido enormes. Las mejoras en el análisis masivo del genoma han permitido que se hayan completado las secuencias de más de 50 especies vegetales (http://genomevolution.org/wiki/index.php/Sequenced_plant_genomes) incluyendo las de mayor interés productivo. Sin embargo, sigue siendo necesario continuar avanzando en los análisis de alta resolución de la diversidad intraespecífica mediante la resecuenciación de regiones y genomas completos, o en el estudio de los caracteres físicos y bioquímicos de los organismos. En este contexto cobra mayor importancia el conocimiento del material vegetal y la fenómica, ciencia que se centra en el estudio de la naturaleza de los fenotipos y la forma en que se determinan, en particular cuando se estudia en relación con el conjunto de todos los genes (genómica) o todas las proteínas (proteómica) y demás -ómicas.

Biotecnología y cultivo *in vitro*

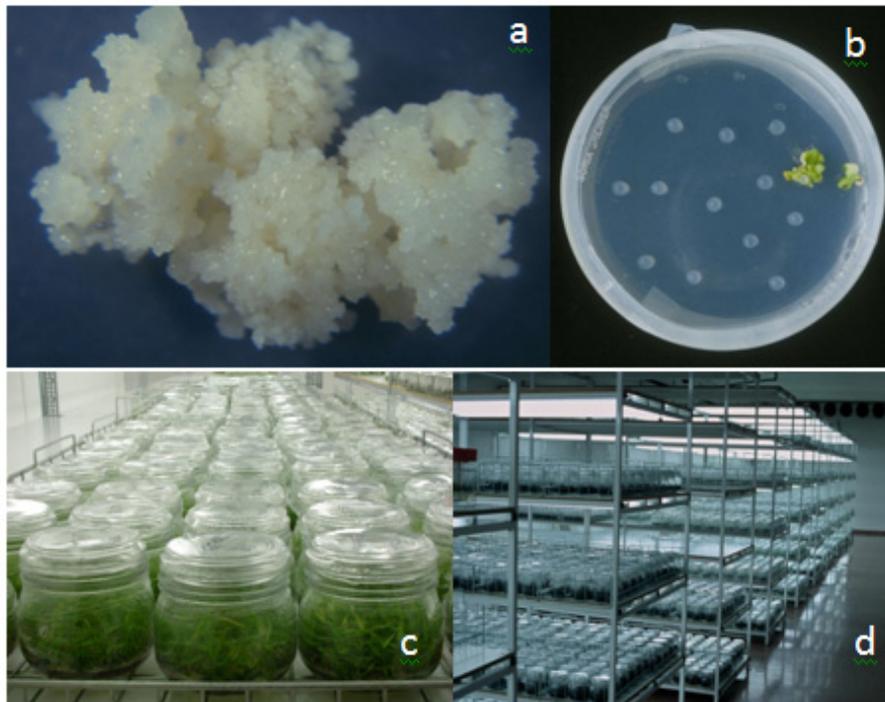
El cultivo *in vitro* consiste en mantener en condiciones asépticas células, tejidos, órganos o plantas completas bajo condiciones controladas. Para buscar el origen de estas técnicas hay que remontarse al año 1902 cuando Haberlandt realizó los primeros intentos basándose en el principio de que las células eran totipotentes. Sin embargo, no fue hasta que se desarrollaron medios de cultivo adecuados, suple-

mentados con reguladores de crecimiento (auxinas y citoquininas), que la idea de Haberlandt se convirtió en una realidad con múltiples aplicaciones, tanto en el ámbito de la investigación básica como en el apoyo a disciplinas finalistas relacionadas con técnicas de multiplicación clonal, la mejora genética, la conservación de germoplasma y el saneamiento.

Micropropagación in vitro como técnica utilizada en viveros. La micropropagación consiste en la obtención de una descendencia de plantas genéticamente idénticas a partir de un fragmento de una planta (ex-plante) cultivado *in vitro* en un medio de cultivo (sales minerales, vitaminas y reguladores de crecimiento) y condiciones ambientales adecuados (Figura 1). Como explantes suelen utilizarse yemas o brotes de pequeño tamaño que deben desinfectarse antes de ser cultivadas para evitar contaminantes que proliferen durante su establecimiento en el medio de cultivo. Las fases del proceso son: i) establecimiento del cultivo *in vitro*; ii) fase de multiplicación o proliferación; iii) fase de enraizamiento (que puede realizarse *in vitro* o *ex vitro*); y iv) aclimatación a suelo (Pierik, 1990). Esta técnica se ha utilizado para la multiplicación de ornamentales, de genotipos generados en programas de mejora genética, así como de cualquier especie de la que se deseen obtener plantas genéticamente idénticas. En este sentido, la micropropagación de especies empleadas como patrones de frutales está jugando un papel importante en viveros en los que la utilización del injerto como método de propagación que se desarrolló en la antigüedad, probablemente en Mesopotamia, presentaba limitaciones importantes debido a que la multiplicación por semilla de las especies utilizadas como patrones conllevaba problemas asociados a la segregación genética de sus caracteres agronómicos.

Técnicas de apoyo a la mejora genética. La posibilidad de generar cultivos de células desorganizadas (callos) da lugar a variación somaclonal ya sea debida a cambios genéticos heredables debidos a alteraciones del DNA o a alteraciones en la expresión génica, cambios epigenéticos, etc., que en teoría son aplicables a programas de mejora genética pero que no han conllevado aplicaciones de interés debido a que muchas mutaciones no han resultado ser heredables o a que se trataba de mutaciones recesivas. Sin embargo existen un número de aplicaciones relevantes: i) cultivo de semillas aparentemente abortadas; ii) rescate de embriones, que permite recuperar híbridos de cruzamientos entre especies alejadas; iii) cultivo de óvulos (o de ovarios) y cultivo de microesporas

Figura 1. a) Cultivo de tejidos desorganizados (callos) susceptibles de ser utilizados para la obtención de protoplastos, para la manipulación genética o para la conservación de germoplasma; b) Células sometidas a un proceso de encapsulación y criopreservación como apoyo a la conservación de germoplasma; a la derecha se observan cultivos que han sobrevivido al proceso de congelación, almacenamiento y descongelación, y se encuentran en proceso de embriogénesis que permitirá la recuperación de plantas completas; c) Cultivos in vitro en fase de multiplicación en un vivero comercial; d) aspecto de la cámara de cultivo de un vivero comercial.



(o de anteras) para la obtención de plantas haploides y líneas homocigóticas dihaploides; iv) cultivo y fusión de protoplastos para la obtención de híbridos somáticos. La hibridación somática está permitiendo generar plantas *autotetraploides* mediante la fusión de protoplastos diploides, plantas *triploides* mediante la fusión de diploides con haploides, y *cíbridos* para el estudio y utilización de la herencia de genes que no se hallan en el núcleo. Hay que mencionar que el cultivo in vitro y la posibilidad de generar plantas completas a partir de cualquier tejido de la planta es también una estrategia inherente en las tecnologías de obtención de plantas transgénicas.

Técnicas de apoyo a la conservación de germoplasma. Como vías de apoyo a los bancos de germoplasma se ha utilizado la conservación del material micropropagado mediante repicados sucesivos de cultivos mantenidos en condiciones de crecimiento lento. Sin embargo la técnica que está dando resultados más prometedores es la criopreservación o sea la conservación de órganos, tejidos o propágulos en condiciones que no exijan su manipulación. Existen varias

aproximaciones ya sean basadas en la aplicación de tratamientos crioprotectores, la vitrificación o la encapsulación que permiten conservar materiales en nitrógeno líquido sin que se vea mermada su viabilidad.

Saneamiento. Se basa en el cultivo in vitro de ápices caulinares (meristemos) lo cual permite recuperar plantas libres de virus y otros patógenos restringidos al floema. El éxito de esta aplicación se basa en cultivar un explante de pequeño tamaño (esencialmente el domo meristemático y uno o dos primordios foliares) que, al carecer de conexión vascular, no ha sido invadido por patógenos. Esta técnica se está utilizando de forma rutinaria para el saneamiento de hortícolas y ornamentales de propagación vegetativa (patata, fresa, geranio, crisantemo....) pero su aplicación a especies leñosas ha exigido modificaciones adicionales. Dichas modificaciones han consistido en microinjetar el ápice caulinar en una patrón compatible generado mediante micropropagación o mediante la germinación in vitro de semillas, y se está aplicando de forma rutinaria para el saneamiento de cítricos y frutales.

Biotecnología y desarrollo de nuevos organismos

Los cultivos transgénicos constituyen tan solo una pequeña parte de la Biotecnología, aunque el impacto social desfigure este hecho. Sin embargo, tienen una importancia incuestionable como evolución de las técnicas convencionales para el desarrollo de nuevos cultivos. Se llaman organismos transgénicos a aquellos a los que se les ha introducido un gen mediante técnicas de ingeniería genética y no mediante técnicas convencionales de mejora. Su novedad se encuentra en la capacidad de saltarse la barrera sexual, al permitir el intercambio de información genética entre especies distantes, como pueden llegar a ser una bacteria y una planta. Hay que señalar, sin embargo, que no es la primera vez en la historia de la humanidad que se crean nuevas especies, así como tampoco es la primera vez que se actúa directamente sobre los genes. El triticale, derivado del cruzamiento entre trigo y centeno, se obtuvo por primera vez en el laboratorio a finales del siglo XIX con el objetivo de disponer de un cereal que reuniera las bondades de las dos especies parentales. Desde mediados del siglo pasado la mutación se ha venido utilizando con éxito en la mejora de las plantas y un elevado número de variedades comerciales son la consecuencia directa de un proceso de mutagénesis artificial mediante agentes físicos o químicos.

La importancia de la agricultura transgénica a escala global es innegable, habiéndose superado el año 2013, 175 millones de ha, más de tres veces el área de toda España, extensión superior a toda la superficie agraria europea y siete veces la española (James, 2013). En el periodo de 18 años en que se han venido cultivando comercialmente (1996-2013), se ha alcanzado una superficie acumulada de más de 1,600 millones hectáreas, equivalente a una vez y media la superficie de los EE.UU. o China. El 60% de la población mundial, unos cuatro mil millones de personas, viven en los 27 países que utilizan cultivos biotecnológicos. España es el decimosexto país, y primero de la UE, por superficie de cultivo de transgénicos, con alrededor de 100.000 ha de maíz resistente al taladro.

Un punto importante que hay que señalar son las dificultades debidas a la legislación vigente en materia de transgénicos en la Unión Europea. A diferencia de lo que ocurre en otros países, en el ámbito de la UE solo es posible cultivar dos variedades de transgénicos, e importar un número limitado de variedades transgénicas. Esto supone una desventaja clara y una pérdida de competitividad para los agricultores europeos. Por una parte solo pueden beneficiarse del

cultivo de una única variedad transgénica, que es el maíz resistente al taladro, cuyo cultivo permite unos beneficios adicionales frente al convencional de 195 €/hectárea (alrededor del 10% del beneficio neto en cultivo convencional); por otra, tienen que competir con cultivos transgénicos procedentes de terceros países, cuya importación está autorizada.

No obstante, aunque en el ámbito de la UE no se puedan cultivar ni comercializar transgénicos, es importante continuar investigando y protegiendo los desarrollos tecnológicos realizados en este campo, ya que en el resto del mundo sí se puede hacer, y esto permitiría no perder el tren de la innovación.

Por otra parte las biofactorías para la síntesis de compuestos de interés constituyen una oportunidad, a la vista de la limitada capacidad de producción en biorreactores, que puede en pocos años llevar problemas de desabastecimiento de biofármacos, por ejemplo.

DESARROLLO DE LA BIOTECNOLOGÍA AGRÍCOLA EN ESPAÑA

Sector Público

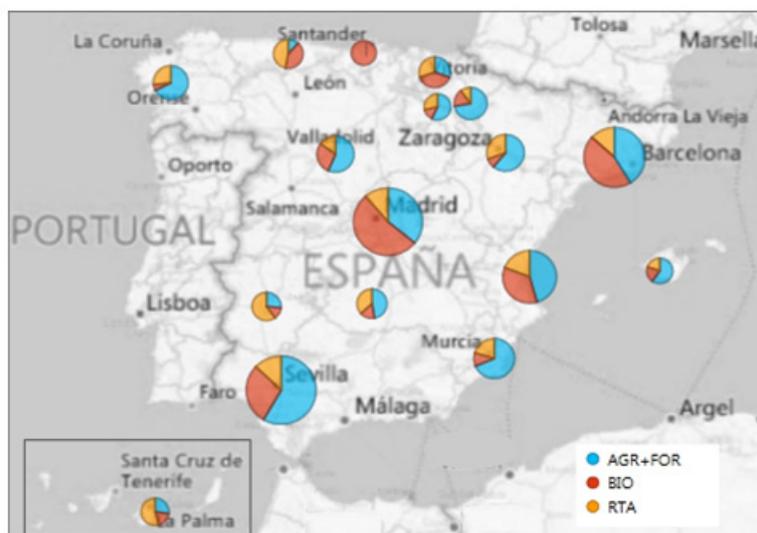
Los instrumentos fundamentales de financiación de los grupos públicos de investigación en España son los Planes Estatales de Investigación Científica y Técnica y de Innovación. En ellos no hay un subprograma específico de Biotecnología Agraria. Sí se utilizan herramientas biotecnológicas en tres antiguos subprogramas del Plan Nacional de I+D: Biotecnología (BIO), "Recursos y tecnologías agroalimentarias", en particular la áreas de Agricultura y Forestal (AGR+FOR), y "Recursos y tecnologías agrarias en coordinación con las CCAA" (RTA). Es muy difícil saber con precisión qué proporción de las actividades enmarcadas en cada uno de estos subprogramas tienen una naturaleza fundamentalmente de biotecnología agraria; una primera aproximación sería de alrededor del 40% de BIO y un 20% de los otros dos. En la Tabla I aparece el número de proyectos y la financiación destinada a cada Comunidad Autónoma por estos subprogramas en el trienio 2010-2012. Dado que la duración media de un proyecto competitivo es de tres años, nos permite estimar el volumen de ciencia pública española competitiva.

En el trienio 2010-12, todas las CCAA, con la excepción de Cantabria que tan solo participó en el subprograma BIO, desarrollaron proyectos en cada uno de estos tres subprogramas, destacando Madrid

Tabla I. Número de proyectos y financiación destinada a cada Comunidad Autónoma en el trienio 2010-2012 de los subprogramas de Biotecnología (BIO), y de las áreas agrícola y forestal de “Recursos y tecnologías agroalimentarias” (AGR+FOR) y de “Recursos y tecnologías agrarias en coordinación con las CCAA” (RTA)

Comunidad Autónoma	BIO		AGL + FOR		RTA		TOTAL		BIOTEC AGRARIA‡	
	Núm. Proy	Total (k€)	Núm. Proy	Total (k€)						
Andalucía	73	14565	149	20198	33	2551	255	37315	66	10376
Aragón	4	935	30	4979	15	1179	49	7093	11	1606
Baleares	1	182	3	588	1	60	5	830	1	202
Comunidad Valenciana	48	9137	62	8603	26	2748	136	20487	37	5925
Canarias	2	115	3	173	6	374	11	663	3	156
Cantabria	2	254	0	0			2	254	1	102
Castilla y León	13	2444	26	3106	7	588	46	6137	12	1716
Castilla - La Mancha	3	360	9	990	7	432	19	1782	4	428
Cataluña	85	18668	77	10923	25	2368	187	31960	54	10126
Extremadura	2	303	4	351	9	745	15	1399	3	340
Galicia	2	611	25	3348	10	888	37	4848	8	1092
La Rioja	1	351	4	499	2	134	7	983	2	267
Madrid	131	29084	89	12626	28	2032	248	43742	76	14565
Murcia	7	1361	44	6216	13	1105	64	8683	14	2009
Navarra	5	999	21	3010	3	179	29	4188	7	1037
Pais Vasco	9	717	7	735	7	540	23	1992	6	542
Principado de Asturias	7	1695	2	224	8	853	17	2771	5	893
Total	395	81780	555	69020	200	16777	1150	167577	309	49871

‡ Considerando que un 40% de BIO y un 20% de los otros dos subprogramas tienen relación directa con Biotecnología Agraria



(131 proyectos), Cataluña (85) y Andalucía (73) en el Subprograma BIO y Andalucía (182), Madrid (117) y Cataluña (102) para los otros dos. En base a estos datos, se puede estimar que en España, en un momento dado, hay alrededor de unos 300 proyectos activos que tienen que ver directa o indirectamente con la Biotecnología Agraria y que representan un desembolso total de unos 50 millones de euros.

El análisis del impacto de las publicaciones generadas por estos proyectos tampoco es sencillo. En las bases de datos bibliográficas no existe una categoría exclusiva de Biotecnología agraria. Para estimar el número y el impacto de los trabajos a nivel global y español, es necesario analizar distintas disciplinas científicas. Sin pretender conocer los valores objetivos concretos, se ha estudiado la evolución temporal de la productividad de autores españoles en cuatro grupos de especies vegetales (plantas modelos, cereales, especies frutícolas y hortícolas) empleando las tres categorías de la Web of Knowledge temáticamente más próximas a la Biotecnología agraria: "Biochemistry and Molecular Biology", "Biotechnology and Applied Microbiology" y "Genetics and Heredity". Los valores que aparecen en la Tabla II deben, por tanto, considerarse más como primeras estimaciones que como valores absolutos.

En los últimos años se vienen publicando anualmente más de 2.000 artículos biotecnológicos en estas especies vegetales, de los que alrededor de un 5%, (unos 100) tienen por lo menos un autor español. La proporción de artículos biotecnológicos en relación al total publicados para cada grupo de especies en los últimos 20 años es aproximadamente el mismo para España que para el total Mundial. Así la presencia de trabajos biotecnológicos en la literatura científica en plantas modelos y cereales se encuentra alrededor del 3-3.5 %, y es del orden del 7-9% para hortícolas y frutales (Tabla II). La presencia relativa de publicaciones españolas de agrobiotecnología en la literatura mundial aumenta con el tiempo tanto en número como en impacto, variando muy significativamente según el tipo de especie. Es mayor para los cultivos de mayor importancia económica española que para los cereales y plantas modelos. En todos los casos el impacto relativo de las publicaciones españolas juzgadas por el número de citas es creciente, superando en los últimos años los valores medios mundiales (Tabla II).

Sin embargo, hay que señalar que estos estimadores, en base a la búsqueda bibliográfica del Web of Science, son claramente muy conservadores, ya que el número de artículos publicados por proyecto sería

del orden de 4, lo que es claramente menor a la productividad media de los proyectos del Plan Nacional.

Situación del sector empresarial con actividades de I+D en Biotecnología Vegetal

El sector agrícola español tiene un peso estratégico muy importante en la economía española y europea. España es el segundo estado europeo en términos de extensión agraria, octavo exportador mundial (cuarto en la UE) de productos agroalimentarios, representando el 12% del total de la producción europea. El sector agro español es líder en productos hortofrutícolas (séptimo productor de fruta a nivel mundial; sexto productor mundial y primer exportador en cítricos; tercer productor y primero por superficie cultivada de viñedo; primer productor y exportador mundial de aceite de oliva). Gracias a su fortaleza exportadora, contribuye muy positivamente a la balanza comercial española; genera mucha industria asociada, crea empleo, mantiene la vida rural y contribuye decisivamente al equilibrio demográfico.

Es un sector diverso y fragmentado, con grandes diferencias geográficas y climáticas y que se enfrenta a unos desafíos globales, comerciales y tecnológicos que hacen muy necesaria la innovación y la incorporación de nuevas tecnologías moleculares y celulares, para poder mantener y mejorar su competitividad, que hasta ahora se ha basado en gran parte en nuestras condiciones climáticas privilegiadas (horas de luz, temperatura, etc.). El retrato robot de una empresa agrícola es el de una pyme tradicional, muy apalancada en activo inmovilizado (maquinaria, invernadero, etc.), con altos costes fijos de producción, y un alto nivel de incertidumbre (producción, precios de venta, etc.) que dificultan la previsión de ingresos. Estas características dificultan su inversión en I+D, que supone una apuesta a largo plazo cuando en la empresa agraria prima la inmediatez de los resultados. Hay una serie de empresas en diferentes subsectores agrícolas (mejora vegetal, nutrición vegetal, protección de cultivos, bioenergía, forestal) con importante actividad e intereses en Biotecnología Agrícola, si bien no son empresas de biotecnología. El sector privado, en general, adolece de un importante déficit en transferencia de tecnología, como reflejan estos dos datos: (1) España realiza entre el 30-40% de la exportación de frutas y hortalizas de toda la UE, pero escasamente tiene el 1% de las variedades vegetales registradas en esos productos; (2) durante los últimos 20 años, solo el 2.3% de las solicitudes en la Oficina Comunitaria de Variedades Vegetales fueron españolas.

Tabla II. Publicaciones científicas españolas e impacto relativo en base al número de citas recibidas en el periodo 1994 -2013, clasificadas según grupos de especies

	1994 - 2013			1994 - 1997		1998 - 2001		2002 - 2005		2006 - 2009	2010 - 2013	
	Artículos Totales	Artículos Biotec.	Proporción	Artículos Biotec.	Citas/ Artículo	Artículos Biotec.	Citas/ Artículo	Artículos Biotec.	Citas/ Artículo	Citas/ Artículo	Artículos Biotec.	
Arabidopsis, rachypodium, M. trunculata	Mundial	87721	34906	39,8%	2312	66,44	4115	64,14	6988	53,64	31,75	11712
	España	3240	1138	35,1%	59	54,12	130	54,83	189	55,09	35,01	427
	Proporción	3,7%	3,3%		2,6%		3,2%		2,7%			3,6%
	Impacto relativo					-23%		-17%		3%	9%	
Trigo, cebada, maíz, arroz	Mundial	240327	42092	17,5%	5992	32,32	6291	31,7	7662	28,83	19,77	12429
	España	7120	1444	20,3%	210	27,62	275	30,19	256	30,29	21,35	371
	Proporción	3,0%	3,4%		3,5%		4,4%		3,3%			3,0%
	Impacto relativo					-17%		-5%		5%	7%	
Tomate, lechuga, melón, pimiento	Mundial	62250	11478	18,4%	1779	42,98	1821	44,58	2295	32,43	20,35	3050
	España	4558	798	17,5%	97	34,85	126	44,52	162	29,91	20,41	238
	Proporción	7,3%	7,0%		5,5%		6,9%		7,1%			7,8%
	Impacto relativo					-23%		0%		-8%	0%	
Olivo, almendra, cítricos, vid	Mundial	133453	20939	15,7%	3246	31,12	3398	32,66	3976	25,23	16,48	5550
	España	11977	1786	14,9%	247	25,17	276	35,37	353	27,36	18,61	458
	Proporción	9,0%	8,5%		7,6%		8,1%		8,9%			8,3%
	Impacto relativo					-24%		8%		8%	11%	

Hay muy pocas empresas españolas puramente agrobiotecnológicas, entendidas como empresas intensivas en I+D y que proporcionan a empresas agrícolas servicios y herramientas biotecnológicas. Suelen ser pequeñas, con poca facturación y frecuentemente con serias dificultades para sobrevivir y consolidarse. Se estima que de todas las empresas del sector biotecnológico español, solo un 15% de ellas se dedican a agrobiotecnología, y representando solamente un 9% del total de la facturación del sector. Por tanto, se puede decir que la agrobiotecnología es el “hermano pobre” del sector privado biotecnológico, lo que se refleja también en las subvenciones públicas a la I+D recibidas durante la última década (solo un 17% de las subvenciones dedicadas a biotecnología).

Paralelamente hay poca experiencia de colaboración público-privada en el sector agrario y poco conocimiento sobre las necesidades tecnológicas de las empresas. Además, las herramientas de financiación de I+D no están adaptadas a las características del sector: créditos con presupuestos mínimos muy altos para la empresa agrícola tipo. Estas empresas necesitarían una primera fase para financiar proyectos pequeños con una parte de subvención; y, una vez adquieran confianza con el proceso de desarrollo tecnológico y validen la I+D como herramienta de desarrollo de negocio, poder introducirles en fases más avanzadas, con créditos y características más parecidas al sistema actual (modelo que se está demostrando ineficaz para involucrar al sector agro). Tampoco contribuye positivamente el hecho de que buena parte de la tecnología agraria, como son las variedades vegetales, no cuenten con ayudas públicas para su registro o extensión a otros países, al contrario que las patentes, que cuentan con subvenciones de la Oficina Española de Patentes y Marcas. Tampoco ayuda el hecho de que las variedades vegetales no cuenten como “activo intangible” y por tanto no se les pueda aplicar el mecanismo de fomento de la I+D conocido como Patent Box.

Por lo tanto, el sector agrícola necesita establecer herramientas para conectar a los productores de tecnología (Ciencia) y los usuarios (Empresas), para conseguir involucrar en mayor medida al sector privado en el sistema I+D+i, mejorar su competitividad y rentabilizar la inversión en I+D realizada. En otras palabras, potenciar la colaboración público-privada. Existen algunas iniciativas dirigidas a este frente entre las que hay que destacar la Plataforma Tecnológica de Biotecnología Vegetal (BIOVEGEN), entidad público-privada cuyo objetivo es la mejora de la competitividad del sector agrario a través de la incorporación de tecnologías procedentes

de la Biología Vegetal. BIOVEGEN está promovida por INVEGEN, Asociación para el Fomento de la I+D Tecnológica en Genómica Vegetal. BIOVEGEN promueve y facilita las actividades de I+D en Biología Vegetal, pone en contacto la oferta y demanda de tecnología, y genera oportunidades de negocio a través de la colaboración Ciencia-Empresa, contribuyendo también a rentabilizar la inversión en I+D. Actúa como interfaz entre la comunidad científica, empresarial y la Administración (MINECO, CDTI, etc.). Para ello, ofrece una serie de herramientas y servicios para facilitar las actividades de I+D+i a sus socios. Actualmente cuenta con 36 entidades socias: 28 empresas y entidades privadas, 8 organismos de investigación y la Secretaría de Estado de I+D+i, que apoya y cofinancia la iniciativa. Además, BIOVEGEN está abierta a colaboraciones con otras entidades del sector.

Cabe destacar también la iniciativa llevada a cabo desde el año 2012 por el INIA. El INIA está organizando foros de debate en distintos temas agroalimentarios (cereales, hortícolas, subproductos, vacuno, porcino, fruta de hueso y pepita, cítricos y frutales tropicales, agua y tecnología del riego, productos forestales, olivo y aceite de oliva, vid y vino, ...) cuya finalidad es reunir al sector público y al privado con el fin de conseguir una colaboración más estrecha entre ambos.

DESARROLLO DE LA BIOTECNOLOGÍA Y RETO AGRARIO

La agrobiotecnología puede desempeñar un papel fundamental en un futuro próximo, y es importante conocer cómo puede evolucionar esta importante área tecnológica a lo largo de la próxima década. En el año 2004 la Fundación Genoma España junto con la Fundación Observatorio de Prospectiva Tecnológico Industrial realizó un ejercicio de prospectiva titulado “Impacto de la Biotecnología en los Sectores Agrícola, Ganadero y Forestal” (Vega García, 2004) que ayudó a identificar las tendencias tecnológicas, las oportunidades de desarrollo y las medidas a tomar para facilitar su implantación en aquel momento. En ese ejercicio se vio que estaban muy presentes las denominadas tecnologías ómicas, y se identificaron como tecnologías críticas la metabolómica, la proteómica y la transcriptómica. Otras tecnologías, también seleccionadas, que ofrecían oportunidades específicas, fueron la selección asistida por marcadores, el desarrollo de mapas genéticos, genotecas y colecciones de ESTs, así como la identificación y separación de proteínas.

En el año 2013 la Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología (FECYT) realizó un nuevo ejercicio

de prospectiva (Ruiz Galán y Rodríguez, 2013) que se tituló "Impacto de la Biotecnología en los Sectores Agrícola y Ganadero 2025" con una finalidad similar. En ese estudio quedó claramente reflejado el papel de la tecnología y la I+D para resolver con éxito los retos socioeconómicos relacionados con la alimentación para los próximos años. Sin embargo, la situación del área de investigación e innovación en las empresas del sector agrario español seguía siendo muy débil, por lo que debe ser prioritario el respaldo desde el sector público, considerando la importancia estratégica del sector agroalimentario para la sociedad. En este nuevo ejercicio de prospectiva se ha visto que algunas de las propuestas tecnológicas siguen vigentes para la próxima década, mientras que otras tecnologías han perdido o ganado interés, apareciendo además tecnologías nuevas y nuevas tendencias de desarrollo. Entre las tecnologías específicas seleccionadas como críticas en este ejercicio de prospectiva se encuentran la mejora de las tecnologías de mutagénesis dirigida, la mejora de las tecnologías de identificación de mutantes, la utilización de organismos biofactoría como sistemas de expresión de proteínas, y el desarrollo de tecnologías de diagnóstico molecular en campo. En definitiva, las aplicaciones de la biotecnología abarcan un abanico tan extenso que su presencia continuará creciendo en los próximos años.

Se identificaron como principales fortalezas de nuestro país en agrobiotecnología la existencia de buenos grupos en investigación básica y, en algunos campos, en investigación aplicada, con buenos conocimientos de las tecnologías. En el otro lado, sería que las principales debilidades y amenazas se deben a la falta de recursos económicos, pero también a la competencia que se produce desde otros países, tanto desde la investigación básica, como desde la investigación desde la industria.

En otras aplicaciones de la biotecnología, a la dificultad del desarrollo de productos biotecnológicos en lo que se refiere a I+D, se unen los requisitos necesarios para ponerlos en el mercado, ya que requieren de ensayos y el proceso de autorización es largo y complejo. Estos hechos dificultan enormemente que los resultados de investigación procedentes de los centros públicos alcancen el mercado. Por una parte desde el ámbito público es difícil realizar los ensayos necesarios para que un producto alcance la autorización. Por otra, la transferencia de estos resultados a terceros que se encarguen de su desarrollo no siempre es fácil, en muchos casos por desconocimiento de los cauces a seguir y, en otros, por falta de personal especializado.

Por tanto, para conseguir una explotación adecuada de los resultados generados es necesario realizar una política de protección de los derechos de propiedad industrial que permita que esos resultados puedan ser explotados por los propios grupos de investigación o por terceros. Para ello es importante contar con expertos en propiedad industrial y transferencia de tecnología que puedan asesorar a los grupos de investigación y facilitarles los trámites necesarios para poder proteger adecuadamente sus descubrimientos, y su transferencia posterior.

Otras medidas que permitirán mejorar la posición de España en agrobiotecnología serían el traslado de las necesidades del sector empresarial a la investigación, coordinando los departamentos de I+D+I de las empresas y los grupos de investigación de las universidades y OPIs o la creación de grupos de investigación multidisciplinares que agrupen a expertos en distintas disciplinas permitiendo aprovechar al máximo las capacidades de nuestros investigadores.

CONCLUSIONES

La agricultura actual se encuentra en una encrucijada en la que coexisten políticas contradictorias que deberían definir las bases de la actividad agrícola actual y futura. La necesidad de conservar el medio ambiente para las generaciones futuras, junto con las necesidades de producción crecientes, los condicionados económicos globales importantes, nos están dirigiendo hacia una agricultura más integrada. La tecnología, como ya ha sido en el pasado, tiene un papel fundamental en la superación de los retos alimentarios presentes y futuros. La agricultura de precisión, la mejora de los insumos, de la maquinaria y de las técnicas de cultivo ayudarán a aumentar la producción y contribuirán, sin duda, a mejorar la sostenibilidad y reducir el impacto de las actividades agrícolas sobre el medio ambiente. Unidas a estas técnicas, la biotecnología podrá jugar un papel esencial en la mejora en el rendimiento de las cosechas mediante el desarrollo de variedades más productivas, resistentes a plagas y enfermedades, adaptadas a condiciones adversas como sequía, salinidad o temperaturas más extremas, o cultivos que requieran menor cantidad de insumos, permitirán aumentar los rendimientos y disminuir el impacto sobre el medio ambiente.

Más allá de los cambios tecnológicos, la transformación más significativa que ha sufrido en los últimos decenios la agricultura, ha sido la pérdida de reconocimiento social. La agricultura ha sido víctima de su propio éxito abandonado la posición privilegiada que tradicionalmente ocupaba en la escala social. En pocos

años hemos pasado de la gratitud social a un rechazo creciente y hoy sentimos más alusiones gratuitas a la contaminación ambiental que provoca, a la falta de inocuidad de los alimentos y a la pérdida de la biodiversidad que a su papel fundamental para abastecer de alimentos a toda la humanidad. En particular, en los últimos años se quieren trasladar particularmente a la opinión pública una sensación de peligro para la salud de los consumidores y del medio ambiente debido al cultivo de nuevas variedades transgénicas y del consumo de sus productos. En este contexto se alude a los peligros de la manipulación genética como un riesgo incontrolable que hay que evitar a toda costa. La Sociedad no puede permitirse que la agricultura,

responsable en gran medida de su evolución cultural, pueda llegar a no beneficiarse de las innovaciones que la biotecnología está aportando en otras áreas. El reto de la agricultura moderna es ganar sostenibilidad y la conjunción de técnicas convencionales con las nuevas herramientas biotecnológicas es imprescindible.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a D. Gonzaga Ruiz de Gauna, Gerente de la *Asociación para el Fomento de la I+D Tecnológica en Genómica Vegetal* (INVEGEN) la información que nos ha proporcionado sobre el sector privado.

BIBLIOGRAFÍA

- Alonso de Herrera, G. (1645). *Agricultura general*. Madrid: Imprenta Real.
- Harjes C. E., Rocheford T. R., Bai, L., Brutnell T. P., Bermúdez Kandianis, C., Sowinski S. G., Stapleton, A. E., Vallabhaneni, R., Williams, M., Wurtzel, E. T., Yan, J. Y Buckler, E. S. (2008). Natural Genetic Variation in Lycopene Epsilon Cyclase Tapped for Maize Biofortification. *Science*, 319, pp. 330-333. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1150255>
- James, C. (2013). Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2013. *International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications*, 46.
- Llácer, G., López, M. M., Trapero, A. y Bello, A. (eds.). (1996). *Patología vegetal*. Valencia: Sociedad Española de Fitopatología y Phytoma.
- Naqvi, S., Zhu, C., Farre, G., Ramessar, K., Bassie, L., Breitenbach, J., Pérez Conesa, D., Ros, G., Sandmann, G., Capell, T. y Christou, P. (2009). Transgenic multivitamin corn through biofortification of endosperm with three vitamins representin three distinct metabolic pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States*, 106, pp. 7762-7767. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0901412106>
- Pallás, V., Escobar, C., Rodríguez Palenzuela, P., Marcos, J. F. (eds.). (2008). *Herramientas biotecnológicas en fitopatología*. Madrid: Mundi Prensa.
- Pierik, R.L. M. (1990). *Cultivo in vitro de las plantas superiores*. Madrid: Mundi Prensa.
- Ruiz Galán, O. y Rodríguez, J. P. (2013). *Impacto de la biotecnología en los sectores agrícola y ganadero 2025. Informe de Prospectiva Tecnológica*. Madrid: Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología, FECYT.
- Vega García, M. (coord.) (2004). *Impacto de la Biotecnología en los Sectores Agrícola, Ganadero y Forestal. Primer informe de Prospectiva Tecnológica*. Madrid: Fundación Observatorio de Prospectiva Tecnológico Industrial y Fundación Genoma España.