

# Nuevas dianas moleculares para mejorar la tolerancia a sequía en plantas

María R. González-Bermúdez<sup>1</sup>; Irene García-Maquilón<sup>1,2</sup>; Jorge Lozano-Juste<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (CSIC-UPV); <sup>2</sup> Actual address: MicroGaia, Murcia  
Programa de Doctorado en Biotecnología; Director de tesis: J. M. Mulet  
mdgonber@ibmcp.upv.es

¿Podemos conseguir cultivos que resistan a la sequía utilizando pequeñas moléculas?

## OBJETIVO GENERAL

Identificar nuevas dianas moleculares implicadas en la tolerancia al estrés abiótico en plantas y que puedan ser controladas por pequeñas moléculas

## IMPORTANCIA Y APLICACIONES

Según la FAO, la **sequía** es el principal factor de pérdida de producción agrícola.

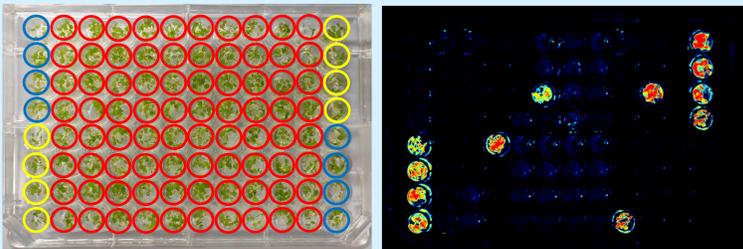
El **ácido abscísico (ABA)** es la hormona vegetal que regula la transpiración y la apertura estomática bajo estrés por sequía.

La modulación de las respuestas a ABA con compuestos que ponen en marcha la señalización de esta hormona, como la opabactina, ha sido utilizada para mejorar la **eficiencia de uso del agua** de los cultivos [1]. Sin embargo, hasta el momento los receptores de ABA han sido las únicas dianas utilizadas para el diseño de estos compuestos.

Este proyecto de tesis puede contribuir al descubrimiento de nuevas dianas para **mejorar la respuesta a estrés de las plantas de cosecha** y poder hacer frente a las sequías venideras.

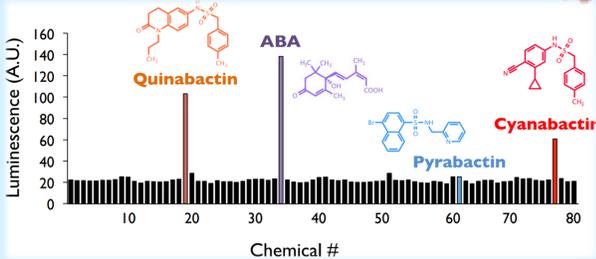
### A Screening piloto (biblioteca de 1200 compuestos OTAVA™)

La línea transgénica *pMAPKKK18::LUC+* de la planta modelo *Arabidopsis thaliana* expresa la proteína **luciferasa** de luciérnaga fusionada al promotor del gen de respuesta a ABA *MAPKKK18*.



○ DMSO ○ ABA ○ Test compound Esquema a seguir en el rastreo en placas de 96 pocillos.

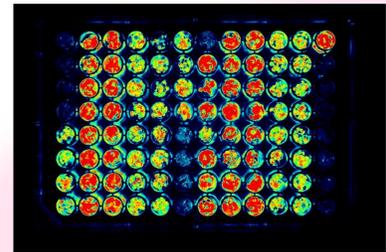
Los compuestos que activen la expresión de *MAPKKK18* encenderán el reportero *LUC+*, y se detectará **luminiscencia** en las plántulas [2].



### B Expansión de los hits mediante búsqueda por homología en biblioteca InnoFarma (60000 compuestos, Innofarma)

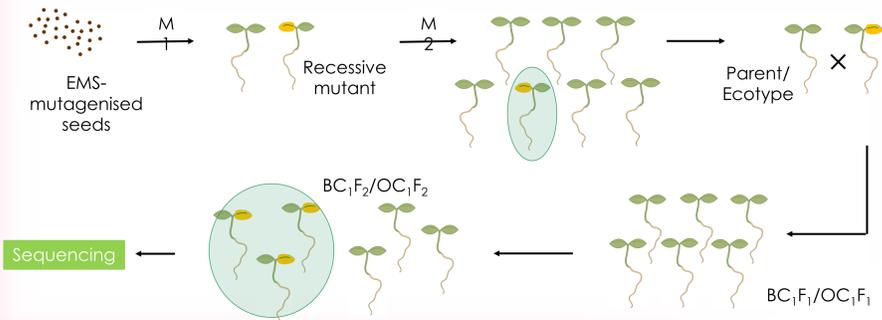
### C Descarte de falsos positivos

- Línea reportera basada en GFP (*6xABRE::eGFP*)
- qPCR



Las moléculas candidatas se testarán sobre una población M2 mutagenizada de plantas *pMAPKKK18::LUC+*, buscando mutantes **NO** activados por los compuestos.

Las dianas moleculares de los compuestos serán identificadas mediante una aproximación de *mapping by sequencing*:



Adaptado de James et al. 2013. *Genome Biology*, 14.

Aproximación de *mapping by sequencing*

## ETAPAS/ OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1 Identificar pequeñas moléculas que activen la respuesta a estrés

2 Caracterizar las moléculas encontradas en 1

3 Identificar las dianas moleculares de los compuestos más prometedores

4 Caracterizar las dianas encontradas en 3

### A RNA-Seq

Para evaluar los perfiles de expresión génica en respuesta al tratamiento con los compuestos.

### B Actividad in vivo

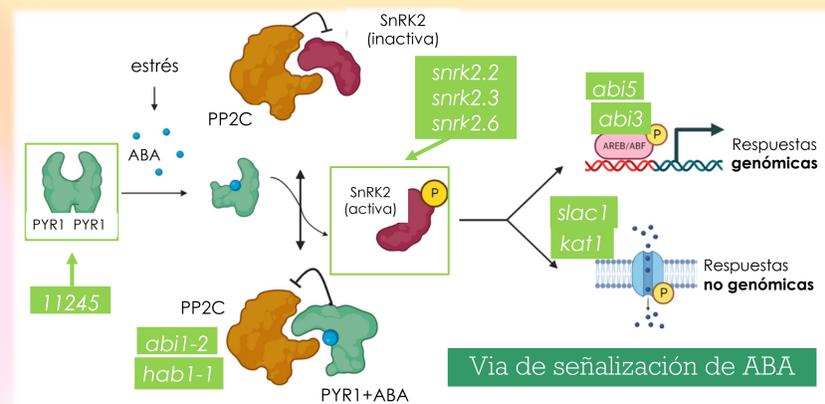
Se evaluarán:



**Cierre de estomas:** Termoimagen (a mayor temperatura en las hojas, los estomas están más cerrados.)



**Germinación:** Ensayos en plantas con mutaciones en diferentes pasos de la vía de señalización de ABA.



Adaptado de Lozano-Juste et al. 2021 [3]

### A Generación de herramientas



Plantas de sobreexpresión



Alelos mutantes de pérdida de función

CRISPR/Cas9

### B Caracterización de las herramientas

Nivel **molecular**

RNA-Seq

Nivel **fisiológico**

Transpiración



Cierre de estomas

## Referencias

- [1] Vaidya et al. 2019. *Nature* 366(6464).
- [2] García-Maquilón et al. 2021. *Methods Mol Biol* 2213, 113-121.
- [3] Lozano-Juste et al. 2021. *Methods Mol Biol* 2213, 99-111