

Trabajos Fin de Máster ofertados por el IBMCP 2024

| | |
|--|---|
| Biología Mejora Vegetal de Especies | Desarrollo de estrategias de RNAi de última generación basadas en pequeños RNAs artificiales. pg 1 |
| | Alberto Carbonell (acarbonell@ibmcp.upv.es) * nueva propuesta |
| | Mutagénesis insercional en tomate. pg 2 |
| | Vicente Moreno y Alejandro Atarés (vmoreno@ibmcp.upv.es; aatares@ibmcp.upv.es) |

| | |
|---|---|
| Dpto. de Desarrollo y Acción Hormonal en Plantas | Adaptación de la producción de biomasa a condiciones de cambio climático. pg 3 |
| | Javier Agustí (jagusti@ibmcp.upv.es) |
| | Estudio del mecanismo molecular subyacente a la actividad del complejo FT-APC8 en Arabidopsis thaliana pg 4 |
| | Fernando Andrés (fandres@ibmcp.upv.es) |
| | Comer en tiempos revueltos: Identificación de factores en el control del final de la floración. pg 5 |
| | Vicente Balanzá (vbalanza@ibmcp.upv.es) |
| | Local auxin biosynthesis regulates plant architecture in response to environmental cues. pg 6 |
| | Javier Brumós (jbrumos@ibmcp.upv.es) |
| | Evolución de la respuesta a la limitación de nutrientes en plantas. pg 7 |
| | Miguel A. Blázquez (mblazquez@ibmcp.upv.es) |
| | Natural variation of light and temperature integration in Marchantia polymorpha pg 8 |
| | Bruno Catarino (bcatari@ibmcp.upv.es) |
| | Regulación epigenética en respuestas rápidas al estrés en plantas pg 9 |
| | Javier Gallego Bartolomé (jagalbar@ibmcp.upv.es) |
| | Estudio de la función de las proteínas DELLA en el control del tamaño de las semillas. Diseñando semillas más grandes. pg 10 |
| | María Dolores Gómez y Miguel A. Pérez-Amador (mdgomez@ibmcp.upv.es, mpereza@ibmcp.upv.es) |
| | Genética del tamaño de semilla en Arabidopsis. GAI y sus interacciones. pg 11 |
| Pablo Tornero y Miguel A. Pérez-Amador. (ptornero@ibmcp.upv.es, mpereza@ibmcp.upv.es) | |
| When growing longer is not an option: comparison between plant model systems to understand divergent strategies to vegetation shade. Jaume Martínez and Marta Díaz (jaume.martinez@ibmcp.upv.es) pg 12 | |
| Regulación hormonal de la función del meristemo apical de Arabidopsis thaliana pg 13 | |
| Paz Merelo (pmerelo@ibmcp.upv.es) | |
| Desvelando la función de enzimas aldo-ceto reductasas vegetales mediante el modelo Marchantia polymorpha. pg 14 | |
| Anselm Morell (anmog15@ibmcp.upv.es) | |
| Formación de biocondensados moleculares como mecanismo de integración de señales lumínicas y circadianas en plantas pg 15 | |
| Maria A. Nohales (manozaf@ibmcp.upv.es) | |
| Estudio de la conservación evolutiva de la señalización sistémica en respuesta a las heridas en plantas. pg 16 | |
| Maite Sanmartín y Sonia Boscá (maite.sanmartin@ibmcp.upv.es; sboscasj@ibmcp.upv.es) | |
| Análisis de la actividad de la población apical de células madre en condiciones de estrés salino pg 17 | |
| Antonio Serrano Mislata (antserra@ibmcp.upv.es) | |

| | |
|---|---|
| Dpto. de Biología del Estrés en Plantas | Nuevos mecanismos de regulación de canales de iones en plantas. pg 18 |
| | Nuria Andrés-Colás y Lynne Yenush (nuanco@btc.upv.es) |
| | La modificación N6-metiladenosina (m6A) del RNA como mecanismo regulador en la biología de los virus RNA de plantas. pg 19 |
| | Frederic Aparicio y Vicente Pallas (vpallas@ibmcp.upv.es) |
| | Estudio de las interacciones moleculares que hacen posible el desarrollo y la viabilidad de las semillas pg 20 |
| | Eduardo Bueso Ródenas, Joan Renard Meseguer (edbuero@ibmcp.upv.es) |
| | Desarrollo de técnicas moleculares en el diseño de fertilizantes biosostenibles pg 21 |
| | Eduardo Bueso Ródenas, Gaetano Bissoli (edbuero@ibmcp.upv.es) |
| | Descubrimiento y caracterización de nuevos RNAs circulares y catalíticos. pg 22 |
| | Marcos de la Peña Rivero (rivero@ibmcp.upv.es) |
| | Cuidando del embrión: papel de los factores de transcripción de tipo MYB y WRKY en la testa de la semilla de Arabidopsis pg 23 |
| | Jose Gadea y Regina Niñoles (jgadeav@ibmcp.upv.es; renioro@upvnet.upv.es) |
| | Análisis de supresores virales del silenciamiento por RNA. pg 24 |
| Carmen Hernández (cahernan@ibmcp.upv.es) | |
| Estudio de genes y metabolitos implicados en la resistencia de las plantas de tomate frente a patógenos. pg 25 | |
| M ^a Pilar López-Gresa y Purificación Lisón (mplopez@ceqa.upv.es; plison@ibmcp.upv.es) | |
| Diseño de vectores virales para inducir el silenciamiento de genes del huésped basados en la modificación de proteínas de mo pg 26 | |
| Jesús Ángel Sánchez Navarro (jesanche@ibmcp.upv.es) y Vicente Pallás (vpallas@ibmcp.upv.es) | |

*Combined effect of using Trichoderma afroharzianum and Nesidiocoris tenuis on the activation of plant defenses in tomato
Meritxell Pérez- Hedo (mepehe@ibmcp.upv.es)

Trabajos Fin de Máster ofertados por el IBMCP 2024

Listado detallado

Departamento de Biotecnología y Mejora Vegetal de Especies Cultivadas

Investigador: Alberto Carbonell

Proyecto: Desarrollo de estrategias de RNAi de última generación basadas en pequeños RNAs artificiales.

El silenciamiento génico o RNA de interferencia (RNAi) mediado por pequeños RNAs artificiales (art-sRNAs) es una valiosa herramienta biotecnológica para regular la expresión génica y que facilita la obtención de plantas mejor adaptadas a los cambios medioambientales o más resistentes a patógenos. Consiste en diseñar art-sRNAs de 21 nucleótidos, altamente específicos y con secuencia complementaria a la del transcrito del gen diana, y expresarlos en plantas para inducir el corte de dichos transcritos y silenciar el gen correspondiente (ver Figura).

Nuestro laboratorio ha desarrollado una serie de herramientas bioinformáticas y moleculares que incluyen unos nuevos vectores de expresión de última generación que permiten el clonado ultrarápido de diversos art-sRNAs, como son los microRNAs artificiales (amiRNAs) o los tasiRNAs sintéticos (syn-tasiRNAs), y su sobreexpresión de manera transitoria o en plantas transgénicas. A pesar del éxito de estas herramientas, la necesidad de integrar las secuencias precursoras de los art-sRNAs en el genoma de la planta limita su uso comercial debido a la estricta legislación europea que regula los organismos modificados genéticamente.

En este proyecto vamos a desarrollar diferentes aproximaciones "GMO-free" para suministrar art-sRNAs a las plantas, como son i) la aplicación exógena (e.g. mediante spray) de precursores de art-sRNAs producidos eficientemente en bacterias, ii) la producción de art-sRNAs a partir de vectores virales sistémicos, y iii) la expresión de art-sRNAs a partir de genes endógenos de sRNAs previamente editados con sistemas CRISPR/Cas. La eficacia de las distintas estrategias se medirá por el grado de silenciamiento inducido tanto de genes endógenos de la planta como de diversos virus vegetales. Estamos convencidos de que el desarrollo de estas nuevas metodologías no transgénicas para suministrar art-sRNAs a las plantas facilitará la obtención de cultivos más productivos en el contexto actual de cambio climático.

Durante la ejecución de este proyecto el estudiante aprenderá múltiples técnicas de biología molecular, bioquímica y fenotipado de plantas, y es de esperar que el trabajo realizado pueda continuarse en el marco de una tesis doctoral.

Información de contacto: acarbonell@ibmcp.upv.es

<https://www.albertocarbonelllab.com/>

<https://ibmcp.upv.es/grupos-investigacion/biotecnologia-de-pequenos-rnas-de-planta/>

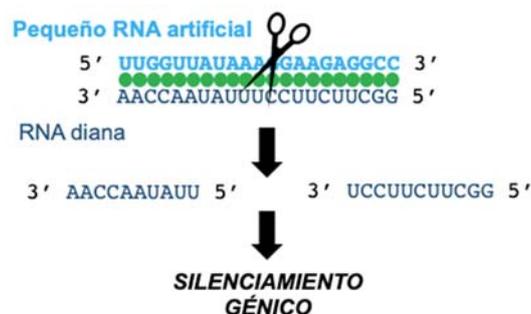


Figura. Silenciamiento génico mediado por art-sRNAs.

Investigador: Vicente Moreno y Alejandro Atarés

Proyecto: Mutagénesis insercional en tomate.

En este trabajo utilizaremos la mutagénesis insercional como herramienta para la identificación de genes clave implicados en el desarrollo del fruto de tomate, así como alguno de los genes que determinan la tolerancia al estrés salino e hídrico, tanto en tomate (moderadamente tolerante a la sal) como en diversas especies silvestres relacionadas (accesiones muy tolerantes al estrés hídrico y salino). Con esta estrategia, los genes quedan etiquetados por el T-DNA, lo que facilita considerablemente el proceso de clonación. En nuestro grupo disponemos de una amplia colección de líneas de inserción y de mutantes previamente identificados con los que poder abordar el trabajo planteado.

Información de contacto: vmoreno@ibmcp.upv.es; aatares@ibmcp.upv.es

Departamento de Desarrollo y Acción Hormonal en Plantas

Investigador: Javier Agustí

Proyecto: Adaptación de la producción de biomasa a condiciones de cambio climático.

La biomasa vegetal es una de las mayores fuentes de energía renovable a nivel mundial y su utilización de forma sostenible reduce drásticamente las emisiones globales de CO₂. Sin embargo, el efecto del cambio climático sobre los procesos del crecimiento y desarrollo de las plantas hace que la producción de biomasa se vea seriamente reducida. Utilizando aproximaciones genómicas, bioinformáticas y moleculares, nuestro grupo ha identificado variantes genéticas naturales en genes reguladores de la producción de biomasa que han sido fijadas durante la evolución y que sólo se encuentran en los genomas de plantas que habitan en regiones secas y cálidas. La hipótesis de partida de este proyecto es que aquellas plantas que poseen éstas variantes genéticas son capaces de producir más biomasa en condiciones de altas temperatura y/o sequía, por lo que éstas variantes serían de gran valor biotecnológico. El estudiante que se incorpore a nuestro grupo testará esta hipótesis caracterizando funcionalmente las variantes genéticas naturales identificadas, con el objetivo de determinar su potencial para la producción de biomasa en altas temperaturas y/o sequía y, por tanto, para mejorar nuestra capacidad de producción de biomasa vegetal en condiciones de cambio climático.

Información de contacto: jagusti@ibmcp.upv.es

<https://jagusti.wixsite.com/agustilab>

X/Twitter: @agusti_lab

Investigador: Fernando Andrés

Proyecto: Estudio del mecanismo molecular subyacente a la actividad del complejo FT-APC8 en *Arabidopsis thaliana*

Las proteínas de unión a fosfatidiletanolamina (PEBP) juegan un papel clave en la regulación del crecimiento y desarrollo de las plantas. Las PEBP están presentes en todas las especies de plantas y regulan procesos biológicos cruciales como la floración, la tuberización, el crecimiento vegetativo y la arquitectura de las plantas. A pesar de su importancia, la comprensión completa de las funciones bioquímicas de las proteínas PEBP sigue siendo limitada. En cuanto a la floración, las proteínas PEBP de *Arabidopsis thaliana* similares a FLOWERING LOCUS T (FT) actúan como activadores florales, mientras que miembros de un grupo similar a la proteína TERMINAL FLOWER1 (TFL1) tienen la función opuesta, actuando como inhibidores de la floración. Estudios recientes sugieren que la actividad antagonista de las PEBP puede deberse a proteínas que interactúan de forma específica con FT o con TFL1.

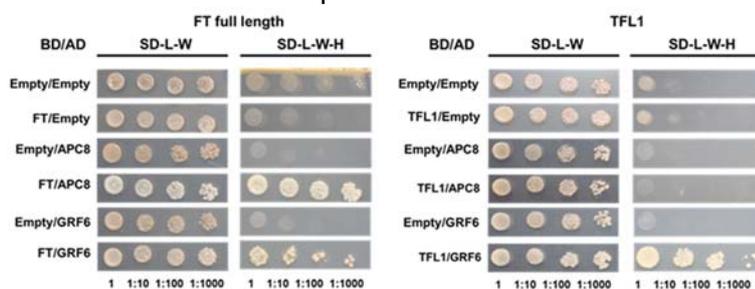


Figura 1. APC8 interactúa con FT pero no con TFL1. Ensayos de doble híbrido en levadura para testar las posibles interacciones entre FT y APC8 (panel izquierdo) y TFL1 y APC8 (panel derecho). Como control positivo se ha usado la interacción de FT y TFL1 a GRF6 (ambos paneles).

En experimentos previos, hemos demostrado que FT interactúa con ANAPHASE PROMOTING COMPLEX 8 (APC8) (Figura 1), una subunidad del complejo E3 ubiquitina ligasa APC/C que desempeña un papel importante en la progresión del ciclo celular en eucariotas. APC/C dirige la destrucción de proteínas específicas a través del proteasoma 26S, basándose en la presencia de motivos conservados de aminoácidos cortos conocidos como D-box. FT presenta en su secuencia aminoacídica un motivo D-box que resulta esencial para su interacción con APC8, lo que sugiere que FT es un sustrato del complejo APC/C. Sin embargo, las proteínas similares a TFL1 no contienen ningún motivo D-box y no interactúan con APC8 (Figura 1). Estos datos sugieren un papel inesperado de FT en el control del crecimiento y desarrollo de las plantas mediante su interacción con reguladores del ciclo celular. En este proyecto, se estudiará el mecanismo molecular subyacente a la actividad del complejo FT-APC8 en *A. thaliana*. Para ello, el estudiante realizará entre otras tareas: (1) una caracterización genética y fenotípica de plantas mutadas en FT, TFL1 y APC8, (2) análisis de la ubiquitinación de la proteína FT mediante western-blot, (3) estudio de la función del motivo D-box en homólogos de FT de otras especies (p.ej. arroz) mediante edición genética (CRISPR/Cas9) y ensayos de interacción proteína-proteína.

Información de contacto: fandres@ibmcp.upv.es

Investigadores: Vicente Balanzá

Proyecto: Comer en tiempos revueltos: Identificación de factores en el control del final de la floración.

Según Naciones Unidas, la población mundial ha estado aumentando de forma gradual hasta la actualidad y se espera que alcancemos los 9700 millones de personas en el 2050 (2100 millones más que en la actualidad). Hasta la fecha se ha asegurado la alimentación de esta población mediante el incremento de la producción agraria mundial, mejorando los rendimientos de nuestros cultivos, pero en gran medida también aumentando la superficie destinada a la agricultura y la ganadería. Lamentablemente, la superficie cultivable en el planeta es limitada, y las consecuencias del cambio climático (aumento de la temperatura, sequía, erosión, ...) están ya provocando la pérdida de miles de hectáreas cultivables. Ante este escenario, el desarrollo de plantas más productivas y mejor adaptadas a las nuevas condiciones climáticas son una prioridad para la comunidad científica.

La producción de flores/frutos/semillas de los cultivos utilizados depende en gran medida de la actividad de los meristemas inflorescentes que las plantas desarrollan durante la etapa reproductiva, y en consecuencia, del tiempo que dura esta actividad. Sorprendentemente, los factores que controlan la duración de la etapa reproductiva apenas se han estudiado. Uno de los objetivos principales de nuestro laboratorio es la identificación y caracterización de los mecanismos moleculares que controlan este proceso teniendo como propósito final la mejora de plantas de interés agronómico: retrasar el final de la floración supone incrementar el número de flores/frutos/semillas producidos, incrementando el rendimiento de las explotaciones agrarias.

En plantas, el final de la etapa reproductiva está controlado principalmente por dos mecanismos. Uno de ellos ha sido recientemente descrito por nuestro grupo, identificando una ruta génica dependiente de la edad que controla la actividad del meristemo inflorescente al final de la floración: La ruta FRUITFULL-APETALA2 (FUL-AP2) (Balanzá et al. 2018). El otro mecanismo está controlado y depende del número de semillas producido por la planta. Aunque este mecanismo se conoce desde hace más de un siglo, las bases moleculares que lo gobiernan todavía son desconocidas. Se ha propuesto que el control del final de la floración ejercido por las semillas dependería, entre otros factores, a la existencia de una posible "hormona de la muerte". Esta hormona de la muerte sería una señal móvil generada en las semillas que afectaría al funcionamiento del meristemo inflorescente y que una vez alcanzados unos niveles determinados desencadenaría el final de la floración suprimiendo la actividad meristemática.

Una hipótesis que barajamos en el laboratorio es que la producción o la actividad de esta "hormona de la muerte" podría estar fuertemente influenciada por factores ambientales como la sequía, la luz o la temperatura, y que se prevé que cambiaran considerablemente en los próximos años. Actualmente hemos identificado diferentes candidatos que podrían estar funcionando como la descrita "hormona de la muerte" generada por las semillas, entre los que se encuentran pequeñas proteínas móviles y miRNAs. De este modo, el TFM que proponemos consiste en la caracterización fenotípica y molecular de mutantes para estos candidatos en diferentes condiciones de crecimiento, como en presencia o ausencia de semillas, en respuesta a diferentes rangos de temperatura o diferentes grados de sequía. Estos análisis se combinarán con el estudio de sus patrones de expresión mediante hibridación *in situ* y análisis de marcadores moleculares (tinciones GUS, microscopía confocal). Por último, se analizará como estos posibles candidatos interactúan o se integran a nivel de la ruta FUL-AP2, mediante la generación de combinaciones de mutantes y el análisis de líneas marcadoras.

Balanzá, V., Martínez-Fernández, I., Sato, S. *et al.* Genetic control of meristem arrest and life span in *Arabidopsis* by a FRUITFULL-APETALA pathway. *Nat Commun* **9**, 565 (2018).
<https://doi.org/10.1038/s41467-018-03067-5>

Información de contacto: vbalanza@ibmcp.upv.es

Investigador: Javier Brumós.

Proyecto: Local auxin biosynthesis regulates plant architecture in response to environmental cues.

Plants exhibit a remarkable capacity to integrate external environmental cues with their own internal developmental programs to always adapt their growth and development to dynamic conditions. This adaptive ability has been shaped over millions of years of evolution and increasingly underscores the key role plant hormones play in the information integration process.

Auxin is a fundamental plant hormone accountable for many aspects of plant development and its regulation in response to environmental variations. In other words, auxin modulates the adaptability of plants to different environments or conditions. Auxin morphogenic gradients govern stem cell niches and cellular differentiation, determining cell fate. The polar transport of auxin is essential for creating and maintaining the auxin gradients. However, recent discoveries highlighting the refined spatiotemporal expression patterns of auxin biosynthesis genes, such as the TAA1/TAR and YUC families, suggest that local auxin biosynthesis also has a major contribution to the formation of the auxin gradients.

Our previous studies demonstrated the cooperative role of local auxin biosynthesis and transport being individually dispensable for establishing and maintaining root meristems. Conversely, processes like flower fertility and specific root responses to environmental signals require local auxin production, as transport alone fails to entirely compensate for generating auxin gradients. The current TFM focuses on investigating the impact of local auxin biosynthesis on the plant architecture in response to environmental cues. Specifically, we explore how diverse environmental factors —such as temperature and light quality— affect a plant's capacity to develop vascular tissue, elongate its hypocotyl and grow new leaves in response to these external stimuli. This research holds crucial significance in the context of climate change and sustainable agricultural practices.

Our objective is to pinpoint key genes and their precise spatiotemporal expression patterns that drive local auxin biosynthesis responsible for vasculature development, contribute to the stem elongation, and affect plant growth in response to temperature and light. This knowledge, in the future, can be used to develop biotechnological tools with the potential to enhance agricultural systems.

Keywords: plant development; local auxin biosynthesis; polar auxin transport; auxin maxima; morphogenic gradient; plant architecture; environmental cues; climate change.

Información de contacto: jbrumos@ibmcp.upv.es

Lab 1.07

Investigador: Miguel A. Blázquez

Proyecto: Evolución de la respuesta a la limitación de nutrientes en plantas

Las plantas integran numerosas señales ambientales con el fin de optimizar su crecimiento. Además de la luz y la temperatura, la disponibilidad de nutrientes es una de las señales más determinantes, ya que influye en la velocidad de división celular, en el tipo de metabolismo que priorizan, y en la producción de nuevos órganos. El principal mecanismo de respuesta a la cantidad de nutrientes en su entorno consiste en la relación entre dos proteínas quinasas con papeles contrarios: TOR y SnRK1. En condiciones de alta disponibilidad de nutrientes, TOR es muy activa y promueve la síntesis de proteínas entre otros procesos. En cambio, cuando la planta percibe una situación de ayuno, TOR se inactiva, mientras que SnRK1 fosforila a otras proteínas que activan la defensa frente a esta escasez. En **plantas vasculares**, parte de la acción de SnRK1 consiste en fosforilar y hacer más activas a las proteínas DELLA, que a su vez frenan el crecimiento para evitar malgastar la energía. ¿Cómo es de antigua esta respuesta, desde un punto de vista evolutivo?

El objetivo de este trabajo es averiguar si las DELLA de **briófitas** (plantas no vasculares), un linaje que se separó del resto de plantas terrestres hace 450 millones de años, también participa en la respuesta al ayuno. En caso de confirmarlo, podríamos concluir que una de las funciones ancestrales de las proteínas DELLA sería regular el crecimiento según la disponibilidad de nutrientes y que ya existía cuando las plantas colonizaron la superficie terrestre.

Para abordarlo, se proponen los siguientes abordajes: (1) comprobar la interacción física entre DELLA y SnRK1 en la briófito *Marchantia polymorpha*; (2) establecer mediante análisis in vitro y proteómico qué aminoácido de DELLA se fosforila; (3) estudiar los efectos transcripcionales del ayuno en *M. polymorpha* comparando plantas silvestres con mutantes deficientes en DELLA.

El estudiante que realice este trabajo aprenderá técnicas de doble híbrido en levadura (Y2H); Complementación Bimolecular de Fluorescencia (BiFC) en hojas de *Nicotiana benthamiana*; producción de proteínas recombinantes en bacterias; análisis de RNA-seq, y además la construcción de plásmidos, y el cultivo y transformación de *M. polymorpha*.

Información de contacto: mblazquez@ibmcp.upv.es

<http://plasticity.ibmcp.csic.es/>

Investigador: Bruno Catarino

Proyecto: Natural variation of light and temperature integration in *Marchantia polymorpha*

Land plants integrate different environmental stimuli into development to coordinate and adjust their growth to thrive across different ecological niches and environmental conditions that they encounter. Light intensity and temperature are two environmental cues that are integrated into a gene regulatory network comprised by phytochromes and transcription factors. Previous research in our lab has identified a conserved core regulatory module that integrates light and temperature across land plants. However, the downstream transcriptional networks have diversified massively since extant land plant lineages diverged from their last common ancestor. We hypothesize that different lineages of land plants evolve unique downstream mechanisms to fine-tune their responses to varying environmental conditions. Additionally, we propose that within a single species, distinct adaptations have occurred during the diversification of that species into different ecological niches to respond to diverse environmental stimuli.

To investigate these hypotheses, we will perform genome-wide association studies (GWAS) on natural accessions of the bryophyte *Marchantia polymorpha*. By growing these accessions under various light and temperature conditions, we aim to identify genes associated with their differential responses. This research will unravel the genetic basis of light and temperature integration and reveal how different natural accessions of *M. polymorpha* adapt to their environments.

The student involved in this project will gain hands-on experience with molecular biology techniques, *M. polymorpha* husbandry and growth assays, omics analyses, and GWAS. They will join a dynamic team with a vast expertise on plant signalling, evolution, and development. For more information about our lab and ongoing projects, please visit our webpage.

Información de contacto: bcatari@ibmcp.upv.es

<https://plasticity.webs.upv.es/>

Investigador: Javier Gallego Bartolomé

Proyecto: Regulación epigenética en respuestas rápidas al estrés en plantas

A diferencia de los animales, las plantas no pueden moverse para escapar de situaciones de estrés. Sin embargo, han desarrollado mecanismos fascinantes para adaptarse y sobrevivir en entornos desafiantes. Uno de los más importantes es la capacidad de ajustar su expresión génica mediante la regulación de la accesibilidad al ADN, un proceso en el que los remodeladores de cromatina juegan un papel central.

¿Por qué es importante?

Los remodeladores de cromatina son máquinas moleculares que controlan qué partes del ADN están accesibles para poder ser transcritas, lo que es crucial durante respuestas rápidas a cambios ambientales. En nuestro laboratorio hemos identificado un remodelador que juega un papel importante en la respuesta temprana al frío, pero aún no entendemos completamente cómo funciona este proceso a nivel molecular ni si está involucrado en la respuesta a otros tipos de estrés, como el calor.

¿Qué investigarás?

Si te unes a este proyecto, participarás en el estudio de:

- Nuevas herramientas moleculares: desarrollarás mutantes condicionales basados en microARNs artificiales y analizarás mutantes de inserción.
- Expresión génica y cromatina: estudiarás cómo cambian los patrones de expresión génica (usando técnicas como qRT-PCR y RNA-seq) y la estructura de la cromatina (ChIP, MNase-seq) en respuesta a estímulos de frío y calor.

¿Qué aprenderás?

Este proyecto te permitirá:

- Adquirir experiencia en biología molecular y epigenética aplicada a plantas.
- Manejar técnicas avanzadas de análisis de expresión génica y estructura de cromatina.
- Colaborar en un entorno de investigación puntero, contribuyendo al entendimiento de cómo las plantas responden y se adaptan a entornos cambiantes.

Información de contacto: jagalbar@ibmcp.upv.es

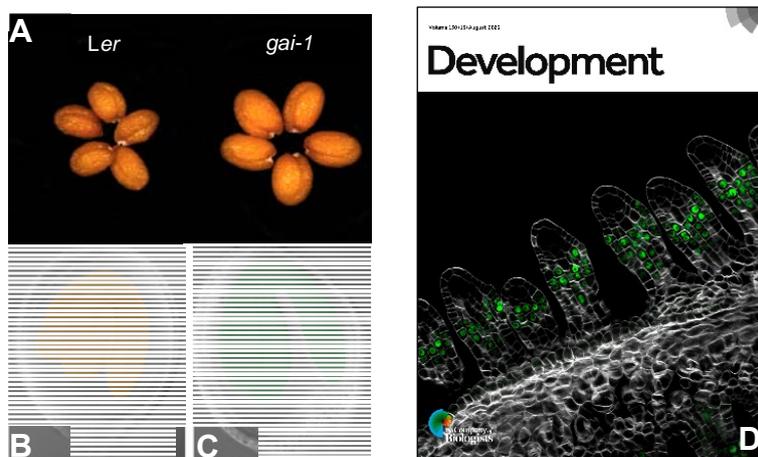
Más información sobre nuestro equipo y líneas de investigación:
<https://jagalbar.wixsite.com/gallego-bartolome/team>

Investigadores: María Dolores Gómez, Miguel A. Pérez-Amador.

Proyecto: Estudio de la función de las proteínas DELLA en el control del tamaño de las semillas.
Diseñando semillas más grandes.

Según la FAO, uno de los mayores desafíos a los que nos enfrentamos es conseguir un aumento en el rendimiento de los cultivos agrícolas con el fin de alcanzar los requerimientos alimentarios de una población en constante crecimiento. Además, este objetivo es aún más complejo si tenemos en cuenta las variaciones producidas por el cambio climático. Para lograrlo es fundamental entender las bases moleculares que determinan **la producción y calidad de las semillas** ya que éstas son la base principal de la nutrición humana, en particular, las semillas de cereales y legumbres.

Las giberelinas (GAs) son hormonas vegetales que regulan multitud de procesos fisiológicos tales como germinación, elongación del tallo, floración, y fructificación. Estudios genéticos y moleculares han permitido identificar los elementos que participan en la cascada de percepción y señalización de GAs, siendo los más relevantes las proteínas DELLA. Las DELLA son proteínas represoras de la señalización por GAs, regulando el crecimiento y la diferenciación promovida por éstas. A nivel molecular, estas proteínas son reguladores transcripcionales que actúan como activadores o represores mediante la interacción con otros factores transcripcionales. Nuestro grupo ha demostrado la implicación de las proteínas DELLA como **reguladoras positivas del tamaño de las semillas**, de forma que mutante dominantes DELLA producen semillas de mayor tamaño. Ahora, nuestro objetivo es conocer cómo las DELLA regulan a nivel molecular el tamaño de las semillas en *Arabidopsis*, con el fin de utilizar este conocimiento para incrementar el rendimiento de especies de interés agronómico como *Camelina sativa*.



A, semillas maduras de una planta WT (*Ler*) y de una planta DELLA dominante (*gai-1*). **B** y **C**, semillas aclaradas WT (**B**) y *gai-1* (**C**). **D**, expresión de ANT-GFP en primordios de óvulos.

El proyecto de Trabajo Fin de Máster se integrará en estas tareas experimentales: a) identificación y caracterización de los genes dianas de las proteínas DELLA durante el desarrollo de las semillas y b) edición genética mediante CRISPR de genes reguladores del tamaño de las semillas en *Camelina sativa*.

Información de contacto: mdgomez@ibmcp.upv.es, mpereza@ibmcp.upv.es
(<https://ibmcp.webs.upv.es/grupos-investigacion/senalizacion-hormonal-del-desarrollo-de-frutos-y-semillas/>)

Investigadores: Pablo Tornero y Miguel Á. Pérez-Amador.

Proyecto: Genética del tamaño de semilla en Arabidopsis. *GAI* y sus interacciones.

Como se menciona en el otro TFM ofertado por nuestro laboratorio, el mutante de ganancia de función *gai-1* tiene un mayor tamaño de semilla que la línea silvestre. Además, las plantas que contienen esta mutación son más resistentes a sequía. Pero en su parte negativa, las plantas *gai-1* son más pequeñas y crecen lentamente. El objetivo de este trabajo es la identificación de las interacciones genéticas entre *gai-1* y otros mutantes de tamaño de semilla de Arabidopsis.

Por un lado, estamos construyendo dobles mutantes entre *gai-1* y mutantes descritos para medir el tamaño de las semillas resultantes. De esta forma podremos describir interacciones genéticas que posicionen a *GAI* dentro del mapa de señalización en el tamaño de semilla.

Por otra parte, estamos rastreando mutaciones en un fondo *gai-1*. Al buscar semillas más grandes que el propio *gai-1* esperamos poner de manifiesto los genes que ejecutan la señal de *gai-1*. Como hemos mencionado, las plantas *gai-1* son más pequeñas, así que también estamos buscando mutaciones que reviertan este fenotipo, pero sin afectar al tamaño de semilla. Es decir, queremos conocer cómo se producen semillas más grandes, y si es posible separar este fenotipo del que produce plantas pequeñas. Por tanto, planteamos un objetivo puramente científico que a la vez tiene una aplicación marcadamente biotecnológica.

Las técnicas a utilizar en este trabajo serán las propias de la biología molecular, genética, y bioinformática.

Información de contacto: ptornero@ibmcp.upv.es, mpereza@ibmcp.upv.es

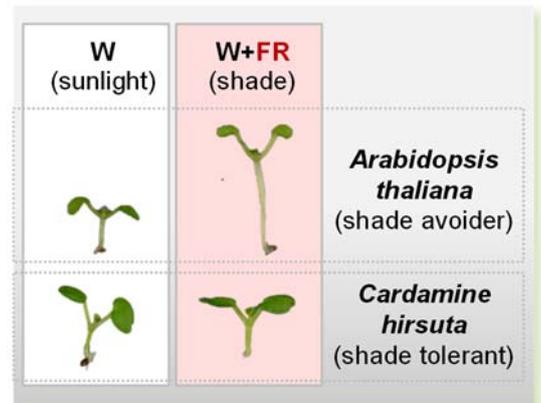
<https://ibmcp.webs.upv.es/grupos-investigacion/senalizacion-hormonal-del-desarrollo-de-frutos-y-semillas/>

Investigador: Jaume Martínez y Marta Díaz

Proyecto: *When growing longer is not an option: comparison between plant model systems to understand divergent strategies to vegetation shade.*

In many plant ecosystems, such as forests or agricultural communities, the **proximity of vegetation** can shade and limit the availability of light for photosynthesis. To deal with this situation, plants have adopted two alternative developmental strategies: avoiding or tolerating plant shade. **Shade-avoider species**, such as the model plant *Arabidopsis thaliana*, activate a set of acclimatization responses with a strong impact on plant development, such as promoting stem (or hypocotyl) elongation, promoting flowering or adjusting photosynthesis to grow in low light levels. In contrast, **shade-tolerant species** lack the characteristic stem elongation response to "escape" the unfavorable shade conditions, and are well adapted to growing in low light levels. This is the case for *Cardamine hirsuta*, a close relative of *A. thaliana* amenable to comparative molecular and genetic analyses.

Whereas the regulation of shade-avoidance is quite well understood, much less is known about the regulation of shade-tolerance at the molecular and genetic level. Using molecular and genetic approaches, we have shown that the lack of shade-induced hypocotyl elongation in *C. hirsuta* is caused, at least, by the enhancement of hypocotyl elongation suppression mechanisms by components already known to act in *A. thaliana* (e.g., example, phyA and HFR1). Since both adaptive strategies share genetic components, it is necessary to understand (1) how the different components act in the reference species of *A. thaliana*,



and next (2) what molecular, genetic and mechanistic aspects differ between the components of the two species that ultimately result in divergent responses (flight or tolerance) to plant shade. Within this frame of knowledge, the proposed TFM will aim to understand better how *A. thaliana* regulates shade avoidance and how the differences with *C. hirsuta* will help a plant to get a shade avoider or a shade tolerant strategy.

Información de contacto: jaume.martinez@ibmcp.upv.es

<https://ibmcp.upv.es/research-groups/light-and-shade-regulation-of-plant-development/>

Investigadores: Paz Merelo

Título: Regulación hormonal de la función del meristemo apical de *Arabidopsis thaliana*

El meristemo apical (o SAM, del inglés shoot apical meristem) es la fuente de células madre (o células meristemáticas) responsable de la formación de las partes aéreas de la planta, como hojas, tallos o flores. Desde un punto de vista agronómico, el correcto funcionamiento del SAM constituye una diana importante en programas de mejora de cultivos ya que determina aspectos fundamentales relacionados con la producción como la arquitectura de la planta o la tasa de formación de flores y, en consecuencia, de frutos y semillas. Por tanto, entender las bases moleculares de la regulación de la actividad del meristemo es crucial para modular la cosecha final.

Gran parte de los estudios sobre el control hormonal de la actividad del SAM se han centrado en las citoquininas (CKs) y auxinas. Sin embargo, se conoce poco sobre la función de otras hormonas y sólo unos cuantos trabajos han proporcionado nuevas claves sobre la interacción hormonal en el SAM. Los resultados preliminares obtenidos en el laboratorio señalan a otras hormonas como el ácido abscísico (ABA) o los brasinosteroides (BRs) como posibles nuevos reguladores de la función del SAM.

Los objetivos generales de este Trabajo Fin de Máster consistirán en (1) estudiar si, además de las CKs y auxinas, el ABA y los BRs podrían regular también la función del SAM, y (2) ampliar nuestro conocimiento sobre las rutas genéticas que actúan aguas abajo de estas hormonas. Para ello, el/la estudiante empleará técnicas de biología molecular, genética y microscopía confocal. Se generarán líneas reporteras fluorescentes relacionadas con rutas hormonales y con la regulación del SAM y se monitorizará el SAM de las líneas resultantes mediante "live imaging" (Figura). Además, el/la estudiante aprenderá a procesar imágenes 3D utilizando softwares que permiten cuantificar expresión génica y otros parámetros morfodinámicos del SAM. También, se llevarán a cabo análisis fenotípicos en mutantes con la actividad del SAM afectada, en mutantes relacionados con ABA/BRs o tras tratamientos hormonales y se evaluarán diferentes marcadores fluorescentes asociados al SAM en dichos fondos mutantes o tras estos tratamientos.

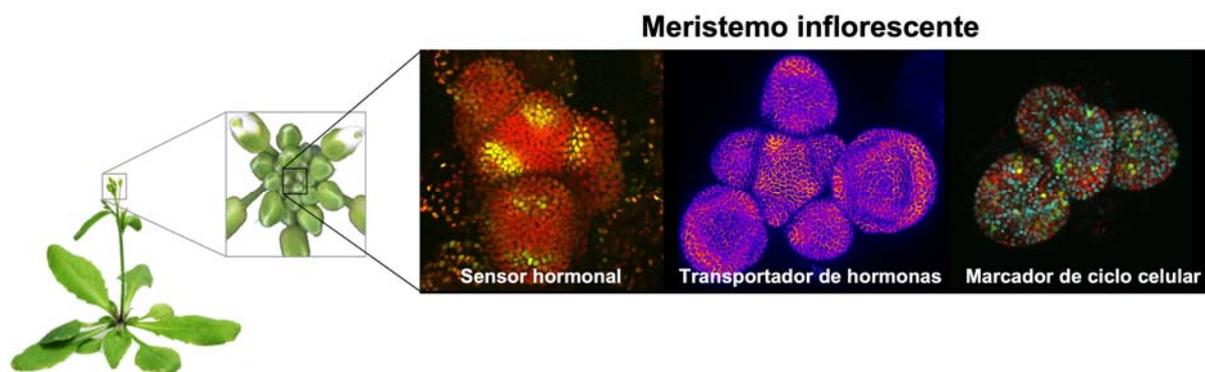


Figura. Imagen de microscopía confocal del meristemo apical (o meristemo inflorescente) de *Arabidopsis thaliana*. La señal fluorescente observada en cada panel corresponde a un sensor de hormonas (rojo y amarillo), un transportador de hormonas (magenta) y un triple marcador de distintas etapas del ciclo celular (rojo, azul y verde).

Información de contacto: pmerelo@ibmcp.upv.es; twitter @PazMerelo

Investigador: Anselm Morell

Proyecto: Desvelando la función de enzimas aldo-ceto reductasas vegetales mediante el modelo *Marchantia polymorpha*.

Las aldo-ceto reductasas (AKRs) son un amplio grupo de enzimas presente en casi todos los organismos y cuyo centro catalítico presenta tal flexibilidad que permite acoger una enorme variedad de sustratos. Esta característica explica por qué las AKRs se implican en funciones fisiológicas tan diversas, desde la detoxificación de fármacos y otras sustancias tóxicas a la biosíntesis de hormonas sexuales en humanos, donde se han caracterizado con detalle debido a su interés farmacológico. No obstante, las funciones fisiológicas de estas enzimas en plantas todavía se desconocen; los pocos estudios hasta la fecha principalmente han descrito cómo la sobreexpresión de AKRs en diferentes especies vegetales confiere protección frente a estreses abióticos.

El objetivo de este TFM será caracterizar funcionalmente aquellas proteínas de la especie *Marchantia polymorpha* que presentan una alta homología de secuencia con las AKRs más relevantes en humanos y *Arabidopsis thaliana*. Para ello seguiremos dos líneas de trabajo paralelas:

- Generar mediante CRISPR/Cas9 líneas de *Marchantia polymorpha* knock-out (KO) para los diferentes genes de AKRs y analizar sus características fenotípicas.
- Producir en la bacteria *Escherichia coli* formas recombinantes de las diferentes AKRs de *Marchantia polymorpha* para su purificación y posterior análisis funcional mediante ensayos enzimáticos *in vitro*.

Información de contacto: anmog15@ibmcp.upv.es
<http://plasticity.ibmcp.csic.es/>

Investigador: María A. Nohales

Proyecto: Formación de biocondensados moleculares como mecanismo de integración de señales lumínicas y circadianas en plantas

El reloj circadiano es un mecanismo endógeno de medición del tiempo que regula de forma omnipresente el comportamiento y la fisiología de los organismos en resonancia con los ciclos ambientales. Así pues, un elemento clave del sistema circadiano es su conexión con el hábitat circundante. El reloj circadiano integra la información ambiental no sólo para transmitirla a los procesos fisiológicos que regula, sino también para sincronizarse adecuadamente con el propio entorno. Se considera que esta función es clave para la salud y la supervivencia del organismo, ya que permite que procesos biológicos clave se lleven a cabo en los momentos más adecuados del día y del año. Tal es la relevancia del reloj circadiano para el desempeño de las plantas en el campo, que los genes que lo componen han sido dianas habituales en los programas de mejora tradicional de especies de cultivo a lo largo de los siglos.

El proyecto que aquí se propone pretende avanzar en nuestra comprensión de los mecanismos moleculares a través de los cuales el reloj se conecta con el entorno mediante la integración de señales luminosas. De este modo, explorará una cuestión fundamental sobre el funcionamiento de los relojes circadianos que cobra especial relevancia en el contexto actual de cambio en las condiciones climáticas. En concreto, investigaremos cómo la formación dinámica de biocondensados moleculares contribuye a estos mecanismos, una dimensión poco conocida de la regulación circadiana. Los objetivos concretos de la investigación serán los siguientes:

1. Expresar y purificar la proteína de reloj GIGANTEA (GI) e investigar su capacidad de llevar a cabo separación de fases *in vitro*.
2. Investigar las características y la dinámica de los biocondensados de GI *in vivo* y en el contexto de módulo regulador GI-PIF-phyB, clave en la transmisión de señales lumínicas al oscilador central.

A través de la consecución de este proyecto, la/el estudiante aprenderá técnicas bioquímicas y de biología molecular de plantas como clonación, expresión de proteínas recombinantes, microscopía, expresión transitoria de proteínas en plantas, análisis fenotípicos en condiciones variables de luz y temperatura, transformación de plantas, realización de cruces genéticos y genotipado.

Información de contacto: manozaf@ibmcp.upv.es

Investigadores: Maite Sanmartín y Sonia Boscá

Proyecto: Estudio de la conservación evolutiva de la señalización sistémica en respuesta a las heridas en plantas.

Las plantas han desarrollado complejas rutas de señalización para responder a los ataques externos y asegurar su supervivencia. En plantas vasculares, estas respuestas no solo se activan de manera local, sino también en tejidos distales, permitiéndoles defenderse ante futuros ataques. Se ha demostrado que los cambios en los potenciales de membrana y los aumentos en los niveles de calcio son fundamentales para establecer estas respuestas sistémicas, y van acompañados de la producción de hormonas que se transmiten a los tejidos distales para activar las respuestas al daño. La generación de estas señales sistémicas depende de la actividad de los canales iónicos de tipo Receptor de Glutamato (GLR), que se expresan en el sistema vascular, lo que explica que la transmisión de las señales sistémicas en respuesta a heridas ocurra principalmente a través de tejidos vasculares. Sin embargo, se desconoce cómo responden las plantas no vasculares a las heridas y si activan respuestas sistémicas.

Para abordar estas preguntas, estamos utilizando la hepática *Marchantia polymorpha*, una especie no vascular, modelo para estudios evolutivos (Fig. 1A). Nuestro trabajo ha demostrado que, en *Marchantia*, se generan señales eléctricas e incrementos en los niveles de calcio en respuesta a las heridas, que se propagan desde los tejidos dañados a los tejidos no dañados (Fig. 1B). Además, el análisis funcional de MpGLR indica que la actividad de este canal es necesaria para modular los cambios en los niveles de calcio en respuesta a las heridas en *Marchantia* (Sanmartin et al., 2024).

Figura 1. A) Talo de 30 días de *Marchantia polymorpha*. B) Transmisión de las ondas de calcio en los tejidos distales en respuesta a una herida en *Marchantia*. Los niveles de calcio se visualizan gracias a la activación del sensor GCaMP3 en plantas transgénicas generadas en el laboratorio. La flecha marca la zona herida; respuesta a los 20 segundos donde se observa la onda de calcio en los tejidos próximos a la herida (panel central); activación del sensor en respuesta al incremento de calcio en tejidos sistémicos (panel derecho).

El proyecto de Trabajo de Fin de Master tiene como objetivo continuar la caracterización de la respuesta a las heridas en plantas no vasculares. Para ello, se analizará la respuesta génica en respuesta a herida en tejidos dañados y sistémicos y se determinará su conservación evolutiva. Además, se definirán los factores que regulan la actividad de los canales GLR y se investigarán las interrelaciones con otros factores implicados en la activación de las rutas de señalización sistémica en respuesta a las heridas, lo que permitirá comprender de manera global la evolución de la señalización a las heridas y determinar si la adquisición del sistema vascular fue una innovación evolutiva esencial para articular una transmisión sistémica eficaz. Con este proyecto se pretende que el estudiante adquiera una sólida formación en biología molecular y celular, gracias a las distintas aproximaciones propuestas, y desarrolle un pensamiento científico crítico que le será de gran ayuda en su futuro profesional.

Sanmartín M, Rojo E, Kurenda A, Larruy-García B, Zamarreño ÁM, Delgadillo MO, Brito-Gutiérrez P, García-Mina JM, Farmer EE, Sánchez-Serrano JJ. 2024. GLR-dependent calcium and electrical signals are not coupled to systemic, oxylipin-based wound-induced gene expression in *Marchantia polymorpha*. *New Phytol.* doi: 10.1111/nph.19803.

Información de contacto: maite.sanmartin@ibmcp.upv.es; sboscasj@ibmcp.upv.es

Investigador: Antonio Serrano Mislata

Proyecto: Análisis de la actividad de la población apical de células madre en condiciones de estrés salino

Todos los órganos de la parte aérea de las plantas derivan de una estructura en el ápice de la inflorescencia llamada el meristemo apical del tallo (SAM, de “*shoot apical meristem*” en inglés). El SAM proporciona un entorno apropiado para la actividad de la población apical de células madre. Como estas células se dividen, crecen e incorporan a nuevos órganos determina la formación de flores y frutos y, por tanto, la productividad de los cultivos.

La alta salinidad de los suelos es uno de los factores de estrés abiótico (ambiental) más devastadores para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Las respuestas de las plantas frente a estrés han sido estudiadas generalmente en órganos de fácil acceso y, por ejemplo, se ha descrito que niveles altos de sal restringen el número de divisiones celulares en hojas y raíces. Sin embargo, el impacto del estrés salino en la actividad celular de órganos más complejos de manipular como el SAM no se ha analizado. Los avances recientes en técnicas de microscopía y análisis de imagen han abierto la posibilidad de llevar a cabo este tipo de estudios.

El objetivo principal de esta propuesta de TFM es optimizar ensayos de estrés salino en la planta modelo *Arabidopsis thaliana* y estudiar la actividad molecular y celular del SAM bajo estas condiciones. Para ello, se utilizará una combinación de técnicas transcriptómicas y de microscopía confocal de fluorescencia. Las respuestas defensivas de la población apical de células madre es un aspecto clave pero poco explorado de la interacción entre plantas y medio ambiente que, además, tiene un potencial interés biotecnológico para el desarrollo de cultivos más productivos en el contexto actual de cambio climático.

Información de contacto: antserra@ibmcp.upv.es

<http://plasticity.ibmcp.csic.es/>

Departamento de Biología del Estrés en Plantas

Investigadoras: Nuria Andrés-Colás y Lynne Yenush

Proyecto: Nuevos mecanismos de regulación de canales de iones en plantas.

En nuestro grupo, investigamos estrategias biotecnológicas para optimizar la eficiencia del uso del agua de las plantas, basadas en la identificación y caracterización de nuevos mecanismos reguladores de canales de K^+ . La escasez de agua es un desafío importante para la agricultura mundial, ya que causa grandes pérdidas económicas y amenaza el suministro mundial de alimentos. En este contexto, nuestra investigación se encuentra justificada dentro de los Objetivos de Desarrollo Sostenible de las Naciones Unidas en su agenda 2030.

En condiciones de sequía, las plantas cierran los estomas (poros microscópicos en la epidermis de las hojas a través de los cuales las plantas pierden gran parte de su contenido en agua). Para el cierre y apertura de los estomas, los flujos de K^+ son determinantes centrales y, por lo tanto, objetivos prometedores para diseñar la tolerancia de las plantas a la sequía. En concreto, este proyecto se centra en el estudio de la regulación de la expresión en células específicas del principal canal de K^+ en los estomas, KAT1, mediada por miRNAs.

Durante este proyecto, emplearemos varios sistemas modelo, incluida la expresión transitoria y estable en plantas. Además, se usarán múltiples técnicas de biología molecular y fenotipado de plantas, como la agroinfiltración de plantas, floral dipping, microscopía confocal de fluorescencia, qPCR y Western blot, entre otras.

Información de contacto: nuanco@btc.upv.es

Investigadores: Frederic Aparicio y Vicente Pallás

Proyecto: La modificación N6-metiladenosina (m6A) del RNA como mecanismo regulador en la biología de los virus RNA de plantas.

Los virus de plantas constituyen una grave amenaza para la seguridad alimentaria y la economía. Debido a su naturaleza biotrófica, los virus necesitan tejido vivo para su multiplicación, por lo que el proceso de infección de estos patógenos debe involucrar numerosas interacciones entre los componentes del virus y el hospedador. Por otro lado, las plantas han desarrollado diversos mecanismos defensivos tales como la adquisición de genes de resistencia o el silenciamiento de RNA. En los últimos años en nuestro laboratorio hemos identificado la metilación N6-metiladenosina (m6A) en el RNA como otro mecanismo de control que regula el ciclo viral de los virus de plantas.

En las células, esta modificación está regulada mediante proteínas *escritoras* (metiltransferasas), *borradoras* (desmetilasas) y *lectoras*, de modo que modulan la función de los ARNm a diferentes niveles tales como el corte y empalme de exones, estabilidad, degradación y traducción del mismo.

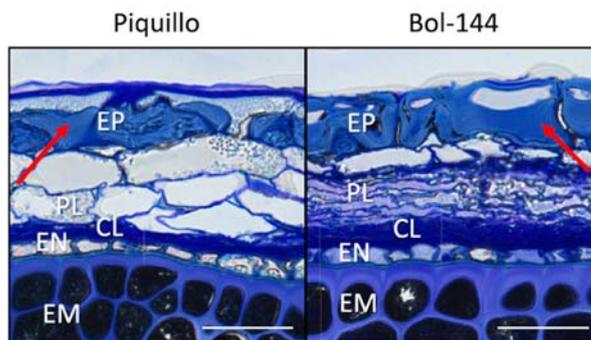
Nuestros estudios han permitido identificar una desmetilasa (Martinez-Perez et al., 2017; PNAS 114: 10755–10760) y algunas proteínas lectoras implicadas en el proceso infectivo del virus del mosaico de la alfalfa (Martinez-Perez et al., 2023; EMBO J. e113378). De hecho, la alteración de los niveles de cualquiera de estas proteínas tiene un profundo impacto en el ciclo del virus. El trabajo de Master que ofertamos se integrará dentro de nuestro objetivo global dirigido a seguir profundizando en los mecanismos moleculares que gobiernan este proceso e identificar nuevos componentes de la maquinaria m6A implicada en la infección viral. El reto final es comprender la relevancia biológica de la modificación de m6A en la patogénesis viral de modo que el conocimiento adquirido pueda ser útil para desarrollar nuevas y novedosas estrategias para controlar los virus de las plantas.

Información de contacto: vpallas@ibmcp.upv.es

Investigador: Eduardo Bueso Ródenas, Joan Renard Meseguer

Proyecto: Estudio de las interacciones moleculares que hacen posible el desarrollo y la viabilidad de las semillas

La viabilidad de las semillas es un parámetro biológico crucial necesario para mantener la biodiversidad de las plantas. Además, comprender los parámetros genéticos y ambientales que podrían modificar este complejo rasgo es fundamental para las empresas productoras de semillas. Los agricultores, cada vez más preocupados por el cambio climático, exigen semillas con el máximo vigor para optimizar el rendimiento de los cultivos (Waterworth et al., 2019). Actualmente disponemos de varios mutantes en factores de transcripción que regulan la viabilidad de las semillas. Sin embargo, el mecanismo molecular es incierto. Utilizando distintas herramientas moleculares, el objetivo es comprender como actúan estas proteínas, regulando genes clave que activen defensas antioxidantes, barreras celulares o mecanismos de reparación. En concreto el estudiante llevará cabo distintas técnicas para comprobar las interacciones proteína-DNA como el CHIP-seq y EMSA. Además, se diseñará el abordaje para obtener mutantes mediante CRISPR-CAS9, así como microscopía de transmisión electrónica con el fin de comprobar los cambios ultraestructurales en la semilla.



Información de contacto: edbuero@ibmcp.upv.es

Investigador: Eduardo Bueso Ródenas, Gaetano Bissoli

Proyecto: Desarrollo de técnicas moleculares en el diseño de fertilizantes biosostenibles

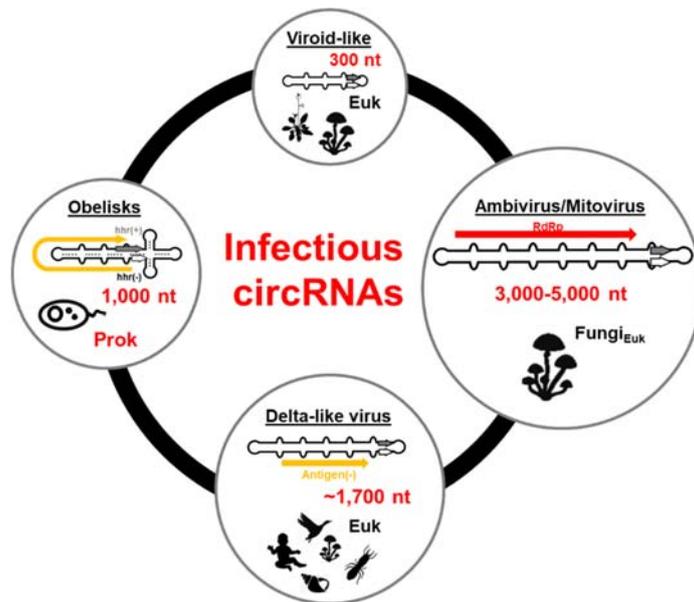
La disponibilidad de fosfato en suelos es un problema importante en la fertilización de los campos. El fósforo inorgánico (Pi) forma precipitados insolubles con calcio a pH normal de muchos suelos y solamente un 0,1% del total está disponible para la toma por las raíces de las plantas. Una solución para que este Pi sea absorbible por los organismos vegetales es la utilización de bacterias del suelo que producen ácido para bajar el pH del suelo. Este proyecto que se llevará a cabo en colaboración con una empresa puntera de fertilizantes pretende aislar y modificar genéticamente microorganismos del suelo con el fin de obtener fertilizantes más sostenibles en agricultura. En concreto el estudiante diseñará plásmidos específicos para la expresión de genes importantes en la solubilización del fósforo de distintas bacterias, también llevará estudios de conjugación bacteriana y ensayos en campo. El estudiante en contacto directo con la empresa, descubrirá un mercado en constante evolución.

Información de contacto: edbuero@ibmcp.upv.es

Investigador: Marcos de la Peña Rivero

Proyecto: Descubrimiento y caracterización de nuevos RNAs circulares y catalíticos.

El RNA circular o circRNA, a diferencia de lo observado para el DNA, ha sido considerado hasta muy recientemente como una macromolécula tremendamente inusual en Biología. En nuestro laboratorio hemos descrito la existencia de transposones que se expresan en plantas y animales como abundantes circRNAs a través de dominios autocatalíticos o ribozimas (Cervera et al. NAR 2020). Más recientemente, descubrimos bioinformáticamente multitud de novedosas familias de virus (Edgar et al. Nature 2022) y otros agentes subvirales de RNA circular con ribozimas (Forgia et al. Nature Comm 2023) en muestras medioambientales de todo el planeta, incluyendo nuestro propio microbioma (Zheludev et al. bioRxiv 2024), lo que confirma la ubicuidad de estos intrigantes agentes infecciosos mínimos. Este TFM se centrará en la caracterización detallada de varios de estos nuevos genomas de circRNA con ribozimas detectados en hongos y plantas (agentes viroidales) así como en bacterias (agentes obelisco). El objetivo es la construcción de los correspondientes clones infecciosos para luego determinar sus capacidades de autoprosesado y replicativas, todo ello siguiendo aproximaciones *in vitro* e *in vivo* y usando plantas y bacterias como sistemas modelo. Todos estos trabajos, además de su interés básico y aplicado, permitirán al estudiante llegar a dominar las técnicas multidisciplinares empleadas en nuestro laboratorio, las que se combinan las aproximaciones bioinformáticas y genómicas con la biología molecular y estructural de ácidos nucleicos y proteínas.



en

Información de contacto:
rivero@ibmcp.upv.es

Investigador: Jose Gadea y Regina Niños

Proyecto: Cuidando del embrión: papel de los factores de transcripción de tipo MYB y WRKY en la testa de la semilla de Arabidopsis

Las semillas resultan esenciales para la propagación de las plantas, por lo que su viabilidad o capacidad germinativa puede determinar la rentabilidad de un cultivo o el mantenimiento de la biodiversidad. Las semillas están formadas por varias estructuras: el embrión (que dará lugar a la nueva planta), el endospermo y la cubierta o testa (que protege al embrión de agentes bióticos o abióticos provenientes del exterior). Este proyecto se inició con el aislamiento y caracterización de un mutante: tt7 (mutado en un enzima de biosíntesis de flavonoides), cuya semilla perdía su viabilidad de forma drástica, al tener una testa con graves problemas de desarrollo, incapaz de aislar al embrión del daño exterior. Nuestro grupo de investigación, determinó que ese fenotipo lo causa la sobreacumulación en la testa de un flavonoide: el Kaempferol 3-Ramnósido (New Phytologist, 2023) y que el doble mutante tt3tt7, que también lo acumula, posee un fenotipo similar.

Para estudiar los mecanismos moleculares que provocaban esos fenotipos, se realizó un RNAseq de testas del mutante tt3tt7 y se observó que muchos factores de transcripción de tipo MYB se encuentran menos expresados en el mutante en comparación con el control, mientras que varios factores de transcripción de tipo WRKY se encuentran mucho más expresados en tt3tt7. Los factores de transcripción de tipo MYB se han implicado previamente en la biosíntesis de diferentes compuestos de la pared celular. Sin embargo, aunque se expresan en la cubierta de la semilla, su función en esta estructura no ha sido estudiada. Los factores de transcripción de tipo WRKY han sido asociados previamente a estrés tanto biótico como abiótico.

Este proyecto pretende abordar las siguientes cuestiones: ¿Qué papel tiene los factores de transcripción de tipo WRKY y MYB en la testa de la semilla? ¿A través de qué dianas llevan a cabo estos factores de transcripción sus funciones en semilla? ¿Contribuye la expresión alterada de estos factores de transcripción al incorrecto desarrollo observado en la testa del mutante tt3tt7 y, consecuentemente, a su anticipada pérdida de viabilidad? Para abordar estas preguntas, en el presente TFM se caracterizarán mutantes y líneas de sobreexpresión de algunos factores de transcripción que presentan expresión alterada en tt3tt7. Concretamente, se estudiará la calidad de sus semillas, analizando parámetros como la permeabilidad de la testa o la viabilidad inicial de la semilla, así como su capacidad germinativa tras el envejecimiento. También se emplearán técnicas de biología molecular y/o de expresión transitoria en *Nicotiana benthamiana* para comprobar posibles dianas de los factores de transcripción estudiados. Los resultados de este TFM contribuirán a establecer los actores moleculares implicados en el desarrollo de la semilla y, consecuentemente, en su viabilidad.

Niños R, et. al. *New Phytol.* 2023 May;238(4):1461-1478.

Información de contacto: jgadeav@ibmcp.upv.es; renioro@upvnet.upv.es

Investigador: Carmen Hernández

Proyecto: Análisis de supresores virales del silenciamiento por RNA.

Los virus son parásitos intracelulares obligados que, dada su limitada capacidad codificante, necesitan utilizar numerosos recursos del hospedador para completar su ciclo infeccioso. El hospedador por su parte activa una serie de respuestas defensivas para frenar o limitar el avance de la infección viral. En plantas, una de las respuestas antivirales más eficientes está basada en el proceso de silenciamiento por RNA que es disparado por RNAs de doble cadena virales y que, en última instancia, conduce a la degradación del RNA del virus invasor. Los virus han desarrollado estrategias para contrarrestar este proceso entre las que destaca la producción de proteínas que actúan como supresores de la ruta de silenciamiento (VSRs), al interferir con distintas etapas de la misma. Estos VSRs están siendo objeto de intensa investigación, no sólo por su papel clave en el ciclo biológico de los virus, sino también porque están sirviendo como herramientas para desentrañar rutas de silenciamiento endógenas de la plantas (implicadas tanto en lucha antiviral como en regulación génica), porque constituyen dianas atractivas para el control de virosis y porque, además, presentan gran potencial biotecnológico. El objetivo del trabajo será seguir avanzando en el estudio del modo de acción de VSRs utilizando técnicas de Biología molecular y celular muy diversas, entre las que se incluyen PCR, clonación de DNA, purificación de DNA/RNA, electroforesis de ácidos nucleicos, análisis Northern y/o Western, microscopia confocal, manejo de virus, transformación de bacterias, agroinfiltración de plantas, etc.

Información de contacto: cahernan@ibmcp.upv.es

Investigadores: M^a Pilar López-Gresa y Purificación Lisón

Proyecto: Estudio de genes y metabolitos implicados en la resistencia de las plantas de tomate frente a patógenos.

A lo largo de la evolución, las plantas han ido desarrollando sistemas de defensa frente a diversas agresiones abióticas y bióticas por parte de su entorno. Estos sistemas defensivos incluyen tanto barreras constitutivas como defensas inducibles. En respuesta a las señales de estrés, las plantas sintetizan proteínas de defensa y compuestos químicos de diversa naturaleza. Estos compuestos pueden ejercer funciones defensivas directas, esto es, actuando como antioxidantes, antibacterianos o antifúngicos, o actuar como metabolitos defensivos indirectos, señalizando la respuesta defensiva. Algunos compuestos volátiles (VOCs) y otros, tales como los alcaloides y compuestos fenólicos de mayor polaridad y peso molecular, pertenecen a este grupo de compuestos defensivos. Empleando diferentes interacciones planta-patógeno tales como tomate-*Pseudomonas syringae*, tomate-*Fusarium oxysporum*, tomate-Virus del mosaico del tomate y tomate-Viroide de la Exocortis de los Cítricos, en nuestro laboratorio estamos interesados en caracterizar componentes proteicos y metabólicos que constituyen dicha respuesta de defensa en tomate. Nuestro objetivo general es contribuir al conocimiento del sistema defensivo de las plantas y obtener plantas más resistentes a las agresiones externas, así como encontrar compuestos naturales asociados a la respuesta defensiva con interés biotecnológico.

Información de contacto: mplopez@cega.upv.es; plison@ibmcp.upv.es

Investigadores: Jesús Ángel Sánchez Navarro y Vicente Pallás

Proyecto: Diseño de vectores virales para inducir el silenciamiento de genes del huésped basados en la modificación de proteínas de movimiento de la familia 30K.

El silenciamiento génico inducido por virus (Virus-induced gene silencing, VIGS) representa un enfoque particularmente relevante en especies agrícolas para el estudio de la funcionalidad génica. En nuestro laboratorio hemos puesto a punto un sistema innovador que permite utilizar virus pertenecientes a la familia de proteínas de movimiento (MP) 30K como vectores VIGS. La estrategia consiste en modificar las MP de la familia 30K para introducir secuencias heterólogas del gen de interés en su secuencia codificante. Este enfoque permitió la inducción exitosa del silenciamiento génico en *Nicotiana tabacum* y *Nicotiana benthamiana*.

A diferencia de los métodos de VIGS convencionales que emplean secuencias de inserción relativamente largas (100-500 pb), nuestro enfoque utiliza secuencias mucho más pequeñas (54 pb o menos). Además, hemos observado que la utilización de secuencias heterólogas pequeñas permite establecer una correlación entre el tamaño de la inserción y la eficacia del silenciamiento, abriendo la puerta a silenciar genes esenciales en huéspedes de interés. En el presente proyecto, analizaremos la capacidad de silenciamiento de dos vectores virales basados en el virus del mosaico de la alfalfa (AMV) y el virus de mosaico del pepino (CMV) así como los requerimientos de las secuencias introducidas para inducir un silenciamiento total o parcial de genes del huésped, utilizando tanto plantas de *Nicotiana benthamiana* como de *Arabidopsis thaliana*. Los resultados de este estudio podrían proporcionar un marco teórico y práctico para la aplicación de VIGS en una amplia gama de cultivos de importancia agrícola, contribuyendo a mejorar su resistencia frente a factores bióticos y abióticos, así como a optimizar la manipulación genética en estos organismos.

Información de contacto: jesanche@ibmcp.upv.es / vpallas@ibmcp.upv.es

Investigadora: Meritxell Pérez- Hedo

Proyecto: Combined effect of using *Trichoderma afroharzianum* and *Nesidiocoris tenuis* on the activation of plant defenses in tomato

Tomato cultivation is among the most important worldwide in terms of consumption and agricultural production. It plays a key role in the agricultural economy in Spain and is an essential pillar for many farmers. However, the current context is marked by significant challenges. Factors such as **climate change**, globalized trade, and the emergence of new pests and diseases seriously threaten the productivity of this crop. In response to these threats, the European Union is promoting the implementation of nature-based solutions, using sustainable approaches that enhance agricultural productivity while protecting natural resources and biodiversity. In this context, beneficial fungi such as *Trichoderma afroharzianum* have proven to be effective plant growth promoters, enhancers of water stress tolerance, and activators of crop defenses. On the other hand, the predator *Nesidiocoris tenuis* has shown great efficacy as a biological control agent, being capable of feeding on various key pests of tomatoes and also inducing defense mechanisms in the plant due to its phytophagy. In light of this scenario, it is crucial to understand whether the combined use of both agents, *T. afroharzianum* and *N. tenuis*, has a synergistic effect or, on the contrary, generates any negative interaction that counteracts their individual benefits. This master's thesis aims to study the combined effect of these two natural enemies in activating **tomato plant defenses**.

Challenges for the student: During the development of this work, the student will carry out the following tasks:

- **RNA extraction:** The student will collect tomato samples and extract RNA from plants treated with *T. afroharzianum* and *N. tenuis*, both individually and in combination.
- **qPCR analysis:** Gene expression analysis will be conducted using qPCR, focusing on genes associated with induced defenses in tomato plants.
- **Data analysis:** The student will perform comprehensive statistical analysis to interpret gene expression results and determine whether there is a synergistic or counterproductive effect on the activation of plant defenses.
- **Literature review and writing of the master's thesis:** Besides experimental activities, the student must research and stay updated on advances in plant defense induction and present their findings and analysis in the final master's thesis.

This project will allow the student to **develop practical skills in plant biotechnology and molecular biology** while contributing to a highly relevant field of research in **sustainable agriculture**.

Keywords: Tomato cultivation, climate change, pests and diseases, nature-based solutions, beneficial fungi, zoophytophagous predator, biological control.

Información de contacto: mepehe@ibmcp.upv.es

Lab 0.09