

VI JORNADA DE SEGUIMIENTO DEL PROGRAMA DE DOCTORADO EN BIOTECNOLOGÍA AVANZADA

Libro de resúmenes

VIERNES 30 DE MAYO DE 2025



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

© UMA Editorial. Universidad de Málaga
Bulevar Louis Pasteur, 30 (Campus de Teatinos) - 29071
Málaga www.umaeditorial.uma.es

© Los autores

ISBN: 978-84-1335-433-0

Publicado en julio de 2025.



Esta obra está sujeta a una licencia Creative Commons: Reconocimiento - No comercial - (cc-by-nc):

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es>

Esta licencia permite a los reutilizadores distribuir, remezclar, adaptar y desarrollar el material en cualquier medio o formato únicamente con fines no comerciales y siempre que se otorgue la atribución al creador.

Tabla de contenidos

Organizadores	6
Entidades Organizadoras	6
Comité Evaluador	7
Premiados	7
Programa	8
Comunicaciones Orales	
Lymphatic metabolism as a therapeutic target in breast cancer. Nieves Montenegro-Navarro, Estefanía Díaz del Cerro, Carmen Jordán-Pérez, Enrique de Álava, Melissa García-Caballero.	13
Dissecting the role of SYT1 and ER-PM contact sites in Ca²⁺ homeostasis and stress signaling. Jorge Morello-López, Fabián Galván-Moreno, Vitor Amorim-Silva, Lourdes Rubio, miguel A. Botella.	14
Búsqueda y caracterización de nuevos compuestos con potencial terapéutico para el tratamiento de enfermedades dependientes de angiogénesis e inflamación. Isabel Vidal Valenzuela, Beatriz Martínez Poveda.	15
Desarrollo de técnicas biotecnológicas para la mejora genética de olivo. Laia Ribalta, Isabel Narváez, José Ángel Mercado, Fernando Pliego-Alfaro, Elena Palomo-Ríos.	17
A role of 14-3-3 proteins in TTL-regulated cellulose biosynthesis during salt stress. Raquel Pagano-Márquez, Alberto Macho, Araceli G. Castillo, Vitor Amorim-Silva, Miguel A. Botella.	19
Efectos región-específicos de la administración crónica y abstinencia de cannabinoides sintéticos en la señalización endocannabinoide, gliosis y neuroinflamación cerebral en modelos animales. Evelin Vadas, Antonio J. López-Gambero, Antonio Vargas, Miguel Rodríguez-Pozo, Patricia Rivera, Juan Decara, Antonia Serrano, Fernando Rodríguez de Fonseca, Juan Suárez.	21
Transformación digital de la gestión agrícola: teledetección aplicada a cultivos arbóreos. Pablo Quesada Molina, Miguel Ángel Quesada, Antonio J Matas.	23
Caracterización de respuestas fisiológicas y moleculares al déficit hídrico en fresa (<i>Fragaria × ananassa</i> Duch.) y avances en el desarrollo de herramientas biotecnológicas de mejora. Sara Aguado Delgado, José A. Mercado-Hornos, M ^a Dolores Moreno Recio, Facundo Spadoni Revol, Antonio J. Matas, Sara Posé, Juan Muñoz-Blanco, Rosario Blanco-Portales, José A. Mercado.	25
Análisis del secretoma extracelular de especies fitopatógenas del complejo <i>Pseudomonas syringae</i>: implicaciones funcionales de proteínas con dominios LysM. Hilario Domínguez-Cerván, Cayo Ramos, Luis Rodríguez-Moreno.	27

Pósteres

Determinantes de virulencia de <i>Pseudomonas savastanoi</i> asociados a huéspedes leñosos.	31
Antonio Arroyo-Mateo, Luis Rodríguez-Moreno, Cayo Ramos.	
Characterizing melanoma tumor microenvironment at the single cell level.	32
Cristina Viúdez-Pareja, Julia Martínez, Mitchell Levesque, Melissa García-Caballero.	
Unifying Precision Medicine and Exploratory Analysis for Rare Disease Mechanism Discovery.	33
Federico García Criado, Pedro Seoane Zonjic y Juan Antonio García Ranea.	
Gene variants controlling natural variation of sugar content in strawberry fruit.	34
F. Javier Roldán-Guerra, Cristina Castillejo, José Luis Ordóñez-Díaz, José M. Moreno-Rojas, José F. Sánchez-Sevilla, Iraida Amaya.	
Influence of light quality and nutrients on coloration, internal compounds and physiology of <i>Chondracanthus teedei</i> var. <i>lusitanicus</i>.	35
Ignacio Moreu, María José Romero, Fini Sánchez-García, María López-Parages, Nathalie Korbee, Félix Figueroa, Ricardo Bermejo.	
Autotaxina como diana para potenciar la inmunoterapia en el cáncer de vejiga.	36
Ismael Aranda Bravo, Valentina Wandel Petersen, Mercedes Pérez Escavy, Cristian Suárez Cabrera, Alejandro Rego Calvo, Tahia D Fernández Duarte, Bernardo Herrera Imbroda, Jesús M Paramio González, Elisa Matas Rico.	
Characterization of olive varieties differing in their tolerance to <i>Xylella fastidiosa</i>: Cell wall composition.	37
Jerónimo Coto-Elena, Elena Palomo-Ríos, Fernando Pliego-Alfaro, Sara Posé, José A. Mercado, Candelas Paniagua.	
Fosforilación ordenada y secuencial de KSR1 determinada mediante anticuerpos fosfoespecíficos.	38
Adrián A. Castillo-Domínguez, José Lozano.	
Estudio de fenotipos patológicos en enfermedades raras.	39
Jesús Pérez García, Pedro Seoane Zonjic, Juan Antonio García Ranea.	
Regulación de la topología de la cromatina por pequeños ARNs durante la adaptación de las plantas.	40
Julia Llinares Gómez, Agustín Ibarra, Regina Mencia, Ileana Tossolini, Pablo A. Manavella.	
El estrés repetido por inmovilización previene los déficits de memoria asociados al alcohol en ratas adolescentes mediante la modulación de la expresión proteica y la fosforilación.	41
Julia Verheul-Campos, Laura Sánchez-Marín, Yolanda López, Francisco Javier Pavón, Juan Suárez, Antonia Serrano, Fernando Rodríguez de Fonseca.	
La inmunoterapia sublingual con Pru p 3 induce cambios en la metilación del ADN hacia la tolerancia en células dendríticas de pacientes con alergia a LTP.	42
María del Carmen Martín-Astorga, Rafael Nuñez, Anyith Cruz-Amaya, Clara Lebrón-Martín, Ana Molina, Natalia Pérez-Sánchez, Francisca Gómez, Marta Andugar, María José Torres, Cristobalina Mayorga.	
Genome-Wide Association Study (GWAS) to find out genes involved in drought tolerance in strawberry.	43
Mario Ruiz-Velázquez, Cristina Castillejo Mangado, José F. Sánchez-Sevilla, Elsa Martínez Ferri, María-Teresa Ariza Fernández, Iraida Amaya.	
Insights into plant-geminivirus interaction: studying the role of RLK-LRR II.	44
Marta A. Rey, Tábata Rosas-Díaz, Araceli G. Castillo.	

Characterization of FaRPL, a Key Regulator of Strawberry Fruit Ripening Dependent on KNOX Interaction. María González-Blanco, Victoriano Meco, Carmen Martín Pizarro, David Posé.	45
Sexual differences in stress-responsive behavior and resilience of adult mice exposed to maternal separation during infancy. Jose Muñoz-Martín, Patricia Chaves-Peña, María Inmaculada Infantes-López, Emma Zambrana-Infantes, Víctor Martín-Aguilar, Cristina Ramírez, Alejandro Zea-Doña, Carmen Pedraza, Margarita Perez-Martín.	46
Exploring the relevance of extracellular vesicles in geminiviral infection. Pablo Morales-Martínez, Pepe Cana-Quijada, Benjamin L Koch, Lucía M Borniego, Meenu Singla-Rastogi, Rosa Lozano-Durán, Roger W Innes, Eduardo R Bejarano, Araceli G Castillo.	47
Deciphering the role of <i>FaARF6</i> in the regulation of strawberry fruit growth and ripening. Raquel Muñoz-de Frutos, Mario Ruiz-Velázquez, José F. Sánchez-Sevilla, Cristina Castillejo, Iraida Amaya.	48
Functional characterization of NTMC2T5 proteins in the development of chloroplasts in <i>Nicotiana benthamiana</i>. Oliver Cuevas, Carolina Huércano, Victoria Sánchez-Vera, Noemí Ruiz-López.	49
Cultivar-by-environment interactions shape strawberry fruit quality: a multi-omics approach across European climates. Patricia Pacheco-Ruiz, Elisa Senger, Delphine M Pott, Freya MR Ziegler.	50

Viernes 30 de mayo de 2025

Organizadores

Dr. Juan Manuel Alba Cano. Científico Titular de OPI.
Dpto. Ecología de Control de Plagas. IHSM-La Mayora -UMA-
CSIC

Dra. Elisa Matas Rico. Profesor Permanente Laboral.
Dpto. Biología Celular, Genética y Fisiología.

Dr. Manuel Cifuentes Rueda. Catedrático de Universidad.
Dpto. Biología Celular, Genética y Fisiología. (Coordinador
Programa de Doctorado Biotecnología Avanzada)

Entidades Organizadoras

Escuela de Doctorado. Universidad de Málaga.
Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga.
Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La
Mayora” (IHSM-UMA-CSIC).



Comité evaluador

Todas las presentaciones han sido evaluadas por un comité científico de profesores del programa de doctorado, sin que hubiera conflicto de intereses originados por ser directores o tutores de ninguno de los participantes. Este comité estuvo formado en esta edición por:

Rafael Fernández Muñoz (Investigador Científico de OPIs)

Javier Ruiz Albert (Profesor Titular de Universidad)

Elena González Muñoz (Profesora Titular de Universidad)

Carolina Sánchez Romero (Profesora Titular de Universidad)

Begoña Oliver Martos (Profesora Permanente Laboral)

Premiados

Nieves Montenegro-Navarro (Mejor Comunicación Oral)

Hilario Domínguez-Cerván (accésit Mejor Comunicación Oral)

Ismael Aranda Bravo (Mejor Póster)

María González Blanco (accésit Mejor Póster)

Programa

9:00 - 9:30

Bienvenida y presentación de la Jornada

Intervención de D^a. Llanos Mora López (Directora de la Escuela de Doctorado, UMA), D^a. Carmen Beuzón López (Vicedirectora del IHSM) y D. Manuel Cifuentes Rueda (Coordinador del Programa de Doctorado).

9:30 - 12:00

Presentaciones orales (10 min + 5 preguntas)

9:30 **NIEVES MONTENEGRO NAVARRO**: “Lymphatic metabolism as a therapeutic target in breast cancer”

9:45 **JORGE MORELLO LÓPEZ**: “Dissecting the Role of SYT1 and ER-PM Contact Sites in Ca²⁺ Homeostasis and Stress Signaling”

10:00 **ISABEL VIDAL VALENZUELA**: “Búsqueda y caracterización de nuevos compuestos con potencial terapéutico para el tratamiento de enfermedades dependientes de angiogénesis e inflamación”

10:15 **LAIA RIBALTA CAMPOS**: “Desarrollo de técnicas biotecnológicas para la mejora genética de olivo”

10:30 **JOSÉ NATIVIDAD JAÉN SANJUR**: “Caracterización molecular y biológica de virus emergentes transmitidos por mosca blanca: crinivirus, begomovirus y polerovirus”

10:45 **RAQUEL PAGANO MÁRQUEZ**: “A role of 14-3-3 proteins in TTL-regulated cellulose biosynthesis during salt stress”

11:00 **EVELIN VADAS**: “Efectos región-específicos de la administración crónica y abstinencia de cannabinoides sintéticos en la señalización endocannabinoide, gliosis y neuroinflamación cerebral en modelos animales”

11:15 **PABLO QUESADA MOLINA**: “Transformación digital de la gestión agrícola: teledetección aplicada a cultivos arbóreos”

11:30 SARA AGUADO DELGADO: “Caracterización de respuestas fisiológicas y moleculares al déficit hídrico en fresa (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) y avances en el desarrollo de herramientas biotecnológicas de mejora”

11:45 HILARIO DOMÍNGUEZ CERVÁN: “Análisis del secretoma extracelular de especies fitopatógenas del complejo *Pseudomonas syringae*: implicaciones funcionales de proteínas con dominios LysM”

12:15 - 12:30 Café y Sesión de Póster (“defensa” informal de póster)

13:00 - 14:00 Conferenciante invitado Emilio Sarria Villada. Breeding Manager, Rijk Zwaan Ibérica.
“Salidas profesionales del biólogo en el sector de la mejora genética”

14:00 - 14:30 Clausura y entrega de premios

COMUNICACIONES ORALES

Lymphatic metabolism as a therapeutic target in breast cancer

Nieves Montenegro-Navarro^{1,2}, Estefanía Díaz del Cerro^{1,2}, Carmen Jordán-Pérez³, Enrique de Álava^{3,4}, Melissa García-Caballero^{1,2}.

¹Department of Molecular Biology and Biochemistry, Faculty of Sciences, University of Málaga (Málaga, Spain). ²IBIMA (Biomedical Research Institute of Málaga)-BIONAND platform, University of Málaga (Málaga, Spain). ³Institute of Biomedicine of Sevilla (IBiS), Virgen del Rocío University Hospital/CSIC/University of Sevilla/CIBERONC, Molecular Pathology of Sarcomas, 41013 Seville, Spain. ⁴Department of Normal and Pathological Cytology and Histology, School of Medicine, University of Seville, 41009 Seville, Spain.
E-mail: nievesmn@uma.es

Lymphangiogenesis, the generation of new lymphatic vessels from pre-existing ones, is a critical driver of cancer progression and metastatic dissemination. Targeting the metabolism of lymphatic endothelial cells (LEC) has emerged as a promising strategy to block lymphangiogenesis and hinder cancer progression. However, the metabolic underpinnings of LECs in the tumor microenvironment remain poorly understood. Here, we identify and characterize metabolic regulators of tumor-associated LECs as potential therapeutic targets to suppress lymphangiogenesis.

Through a comprehensive analysis of single cell RNA-sequencing data from human breast tumors, we uncovered a distinct metabolic gene signature that was upregulated in tumor-associated LECs. These findings were validated through co-culture assays with different breast cancer cell lines, demonstrating the upregulation of this gene signature. The functional relevance of these genes was assessed by targeted gene silencing in LECs, which led to marked impairments in cell viability, proliferation, migration, invasion, spheroid sprouting and tube formation, which are the main processes that LECs undergo during lymphangiogenesis.

Bulk RNA sequencing of gene-silenced LECs revealed major disruptions in pathways critical for metabolic reprogramming and vascular remodeling, which were further validated through mechanistic *in vitro* assays. To substantiate their relevance *in vivo*, the murine fat pad model was performed, demonstrating significantly reduced tumor volume and metastatic dissemination upon gene knockout. Collectively our study uncovers a metabolic signature in tumor-associated LECs that promotes lymphangiogenesis and metastasis and highlights LEC metabolism as a novel target for cancer therapy.

Dissecting the Role of SYT1 and ER-PM Contact Sites in Ca^{2+} Homeostasis and Stress Signaling

Jorge Morello-López¹, Fabián Galván-Moreno¹, Vitor Amorim-Silva¹, Lourdes Rubio², miguel A. Botella¹

¹ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea "La Mayora" ² Fisiología Vegetal. Facultad de Ciencias. UMA

Endoplasmic Reticulum-Plasma Membrane Contact Sites (ER-PM CS) are specialized microdomains where the ER and plasma membrane come into proximity, which facilitate protein interactions and exchange of lipids and ions including calcium, a key second messenger in stress responses. Arabidopsis Synaptotagmin 1 (SYT1), a tethering protein at ER-PM CS, was identified in a screen for NaCl-sensitive mutants (Schapire et al., 2008). SYT1 acts as membrane tether as it anchors to the ER and binds the PM via its C2 domains.

To understand the role of ER-PM CS in Ca^{2+} homeostasis, we focused on determining whether SYT1 itself plays a role in Ca^{2+} signaling under stress conditions. Since *sy1* mutants exhibit impaired reactive oxygen species (ROS) generation upon treatment with flagellin 22 (flg22), we first analyzed flg22-triggered cytosolic Ca^{2+} responses using the cytosolic Ca^{2+} reporter aequorin (Knight et al., 1991). Our results show that *sy1* mutants display a Ca^{2+} wave with lower amplitude and reduced slope compared to wild-type (WT) plants when treated with flg22, thus suggesting that SYT1-driven ER-PM CS play a crucial role in ROS generation.

In parallel, our proteomic analysis of SYT1 based on affinity purification (AP-MS) identified the ER-localized Ca^{2+} -ATPases ECA1 and ECA4 as potential partners of SYT1. This interaction was validated through co-immunoprecipitation and bimolecular fluorescence complementation (BiFC) assays, which revealed that ECA1, despite its general ER localization, specifically interacts with SYT1 at ER-PM CS. To explore the functional significance of this interaction, we have generated an *eca1eca4* double mutant using CRISPR/Cas9. So far, we have observed that these mutants exhibit severe defects in silique formation and a mild impairment in ROS production.

We are currently investigating the effects of varying extracellular Ca^{2+} concentrations on *eca1eca4* and *sy1* mutants under abiotic stress to further elucidate the roles of SYT1 and ECA1/ECA4 in Ca^{2+} signaling. Additionally, we are generating mutant lines expressing the Ca^{2+} reporters R-GECO (cytosolic) and ER-GCaMP (ER) to enable organ-specific monitoring of Ca^{2+} dynamics (Resentini et al., 2021). These tools will allow us to dissect the spatial and temporal roles of SYT1 and ECA1/ECA4 in Ca^{2+} -mediated responses to abiotic stress and underscore the importance of ER-PM CS and SYT1 in Ca^{2+} signaling and stress responses.

References:

- Knight, M. R., et al. (1991). Transgenic plant aequorin reports cytoplasmic calcium dynamics. *Nature*, 352(6335), 524-526. <https://doi.org/10.1038/352524a0>
- Resentini, F., et al. (2021). Imaging ER and cytosolic Ca^{2+} dynamics reveals long-distance ER Ca^{2+} waves in plants. *Plant Physiology*, 187(2), 603-617. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiab251>
- Schapire, A. L., et al. (2008). Arabidopsis Synaptotagmin 1 maintains plasma membrane integrity and cell viability. *The Plant Cell*, 20(12), 3374-3388. <https://doi.org/10.1105/tpc.108.063859>

Búsqueda y caracterización de nuevos compuestos con potencial terapéutico para el tratamiento de enfermedades dependientes de angiogénesis e inflamación

Isabel Vidal Valenzuela¹, Beatriz Martínez Poveda^{1,2,3}

¹Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Andalucía Tech, 29071 Málaga, España. ²Instituto de Investigación Biomédica de Málaga y Plataforma en Nanomedicina, IBIMA Plataforma BIONAND, 29590 Málaga, España. ³CIBER de Enfermedades Cardiovasculares (CIBERCV), Instituto de Salud Carlos III, 28029 Madrid, España.
E-mail: isabel25.vidal@gmail.com

Un área relevante de investigación farmacológica es la exploración de nuevas estrategias terapéuticas para enfermedades de alta prevalencia, como las patologías cardiovasculares, neurodegenerativas y el cáncer. En estas condiciones se destacan diversos procesos fisiopatológicos comunes que participan en su inicio o desarrollo (inflamación, angiogénesis y regulación del metabolismo celular, entre otros) (Hanahan, 2002; Wilson et al., 2023). El hallazgo de moléculas capaces de modular estos procesos compartidos podría representar una ventaja en el desarrollo de nuevos candidatos a fármacos, siendo esta la principal hipótesis de este Proyecto de Tesis Doctoral, que propone explorar las capacidades bioactivas de compuestos naturales y sintéticos en el contexto de la inflamación, la angiogénesis y el metabolismo endotelial.

Como sistema experimental utilizamos cultivos celulares primarios de endotelio, tanto de origen bovino (BAEC, *Bovine Aortic Endothelial Cells*) como humano (HUVEC, *Human Umbilical Vein Endothelial Cell*). Para evaluar la respuesta endotelial a la inflamación *in vitro* realizamos ensayos de expresión de moléculas inflamatorias mediante rt-qPCR, Western-blot y citometría, y analizamos el estado de activación de vías de señalización inflamatorias mediante Western-blot e inmunofluorescencia. Asimismo, para la evaluación de la modulación de la angiogénesis se realizaron ensayos *in vitro* de supervivencia y análisis del ciclo celular, tubulogénesis sobre Matrigel, migración e invasión celular, entre otros. Se midieron parámetros metabólicos en células *in vitro* mediante ensayos realizados en el bioanalizador Seahorse.

Los estudios se centran en cinco compuestos principalmente: el dimetil itaconato (DMI, derivado del metabolito itaconato), el PFK15 (molécula pequeña inhibidora de la enzima PFK3B), la aeroplisinina-1 (Apl-1, compuesto natural aislado de una esponja marina), y la oleaceína y el oleocantal (OLCN y OLCT respectivamente, compuestos fenólicos aislados del aceite de oliva virgen). En esta comunicación se presentan resultados relativos al efecto de estos compuestos en inflamación (Apl-1, OLCN y OLCT), angiogénesis (PFK15 y DMI), y estado metabólico celular (PFK15), que han sido parcialmente publicados en revistas especializadas.

En el marco de este Proyecto de Tesis hemos identificado el efecto antiinflamatorio de la Apl-1 (Vidal et al., 2022a), la OLCN y el OLCT en el endotelio, y el potencial inhibidor de angiogénesis del DMI (Vidal et al., 2022b) y el PFK15, completando así los objetivos propuestos.

Bibliografía:

Hanahan D. (2022). *Hallmarks of Cancer: New Dimensions*. *Cancer discovery*, 12(1), 31–46.
<https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>

- Vidal, I., Castilla, L., Marrero, A. D., Bravo-Ruiz, I., Bernal, M., Manrique, I., R Quesada, A., Medina, M. Á., & Martínez-Poveda, B. (2022). The Sponge-Derived Brominated Compound Aeroplysinin-1 Impairs the Endothelial Inflammatory Response through Inhibition of the NF- κ B Pathway. *Marine drugs*, 20(10), 605. <https://doi.org/10.3390/md20100605>
- Vidal, I., Fernández-Flórido, E., Marrero, A. D., Castilla, L., R Quesada, A., Martínez-Poveda, B., & Medina, M. Á. (2022). The Immunomodulator Dimethyl Itaconate Inhibits Several Key Steps of Angiogenesis in Cultured Endothelial Cells. *International journal of molecular sciences*, 23(24), 15972. <https://doi.org/10.3390/ijms232415972>
- Wilson, D. M., 3rd, Cookson, M. R., Van Den Bosch, L., Zetterberg, H., Holtzman, D. M., & Dewachter, I. (2023). Hallmarks of neurodegenerative diseases. *Cell*, 186(4), 693–714. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.12.032>

Agradecimientos y financiación: Financiado con los proyectos PID2019-105010RB-I00 (Ministerio de Ciencia e Innovación, Gobierno de España), UMA18-FEDERJA-220 y P20_00257 (Junta de Andalucía-FEDER). Agradecimiento al Servicio de Cultivos Celulares de los Servicios Centrales de Apoyo a la Investigación de la Universidad de Málaga (SCAI-UMA).

Desarrollo de técnicas biotecnológicas para la mejora genética de olivo

Laia Ribalta, Isabel Narváez, José Ángel Mercado, Fernando Pliego-Alfaro,
Elena Palomo-Ríos

Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal, Instituto de Hortofruticultura Subtropical y
Mediterránea “La Mayora” (IHSM-UMA-CSIC), Universidad de Málaga, 29071 Málaga, España.
E-mail: ribalta@uma.es

El cultivo del olivo (*Olea europaea* L.) en España se enfrenta a retos significativos debido al cambio climático, la escasez hídrica, la intensificación del cultivo y el aumento de enfermedades como la verticilosis causada por *Verticillium dahliae* (VD). Esta tesis se centra en tres líneas estratégicas para el mejoramiento biotecnológico del olivo. El primer objetivo incluye la generación de genotipos con mayor tolerancia a VD mediante la selección in vitro de células embriogénicas expuestas a filtrado crudo del patógeno. En el segundo objetivo se aborda la obtención de líneas tetraploides, mediante tratamientos con colchicina de células embriogénicas. En el último objetivo se incluye la optimización de un protocolo para la obtención de protoplastos.

Para el primer objetivo, se ha utilizado la línea embriogénica P1 derivada de un embrión zigótico del cv. Picual, que fue expuesta a altas concentraciones de un filtrado crudo del patotipo defoliante Vd781 (40%, 50% y 60%), como suplemento del medio de cultivo (ECO) líquido. Se seleccionaron tres líneas embriogénicas tras sobrevivir a exposiciones recurrentes de tres semanas. En una estrategia paralela, se expusieron embriones somáticos a una dosis del 20% de filtrado durante la fase de proliferación (medio líquido), la fase de maduración (medio sólido) o ambas. Posteriormente, se generó un número limitado de embriones viables y se recuperaron plantas. Por otro lado, se aplicaron dosis continuas más bajas (5% y 10%) mantenidas durante todo el proceso y se regeneraron plantas. El material obtenido en las diferentes estrategias se encuentra creciendo en invernadero para su evaluación frente a VD.

Para la inducción de tetraploidía (segundo objetivo), se utilizaron embriones somáticos globulares que fueron tratados con colchicina (0,1%) durante 2, 3 y 6 días. Se observó un incremento progresivo de la obtención de tetraploidía con la duración del tratamiento: 2,8%, 9,3% y 12,5%, respectivamente. Se obtuvieron 4 líneas tetraploides (líneas 31, 32, 33 y 44), las cuales fueron maduras, germinadas y aclimatadas con tasas de éxito comparables al control diploide. No se observaron diferencias en enraizamiento y se realizó un análisis fisiológico preliminar que evidenció variaciones en área foliar, longitud del tallo, entrenudos y densidad estomática entre tetraploides y controles diploides (Ribalta et al., 2023).

Finalmente, en el marco del tercer objetivo, se abordó, por primera vez, la obtención de protoplastos de olivo a partir de células embriogénicas. Se evaluaron dos protocolos: uno desarrollado en hojas de olivo (Sahouli et al., 2022) y otro puesto a punto para zanahoria (Grzebelus et al., 2012). El protocolo de Sahouli, utilizando la solución enzimática S1, no resultó efectivo, ya que provocó necrosis celular sin liberación de protoplastos. En cambio, el protocolo adaptado de Grzebelus, basado en el pretratamiento con la solución PSII y la digestión enzimática ESIV, permitió una liberación limitada de protoplastos. Para mejorar este rendimiento, se incrementó la masa inicial de callo embriogénico a 2 g y se suplementó la mezcla enzimática con 200 mg/l de caseína hidrolizada, lo que favoreció la viabilidad celular. Finalmente,

durante la fase de purificación, se comprobó que un gradiente osmótico adecuado era crucial para la recuperación de protoplastos viables, obteniéndose los mejores resultados con una concentración de sacarosa/MES de 0,7 M, lo que permitió alcanzar una densidad celular de $1 \cdot 10^6$ protoplastos/ml.

Referencias:

- Grzebelus, E, Szklarczyk, M and Baranski, R. (2012) An improved protocol for plant regeneration from leaf- and hypocotyl-derived protoplasts of carrot. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 109, 101–109. <https://doi.org/10.1007/s11240-011-0078-5>
- Ribalta, L., Mercado, J. A., Pliego-Alfaro, F., Palomo-Ríos, E. (6-8 septiembre, 2023) Olivos tetraploides: una nueva estrategia en la mejora [Presentación póster] XV Reunión de la Sociedad Española de Cultivo In Vitro de Tejidos Vegetales (SECIVTV), Lleida, España. <https://hdl.handle.net/10630/27936>
- Sahouli, S, Abdeddaim, K, Werbrouck, S P O. (2022) Isolation, chemical fusion, and culture systems for olive (*Olea europea* L.) protoplasts *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* (2022) 58:664–670 <https://doi.org/10.1007/s11627-022-10274-9>

Financiación: Proyectos: P18-RT-1933, UMA18-FEDERJA-096, REACH-XY

A role of 14-3-3 proteins in TTL-regulated cellulose biosynthesis during salt stress

Raquel Pagano-Márquez¹, Alberto Macho², Araceli G. Castillo¹, Vitor Amorim-Silva¹, Miguel A. Botella¹.

¹ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea, Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), Campus de Teatinos, Málaga E-29071, Spain. ² Shanghai Center for Plant Stress Biology, Shanghai Institutes of Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai, China.
E-mail: raquelpagano@uma.es

Cellulose is the main structural compound of the plant cell wall and the most abundant biopolymer on Earth (Bar-On et al 2018). The essential role of cellulose in plant development and defence highlights the importance of understanding how its synthesis is regulated and will provide new tools to improve crop tolerance to biotic and abiotic stresses.

We identified that Tetratricopeptide Thioredoxin-Like (TTL) proteins function as scaffold components of brassinosteroid signalling components (Amorim-Silva *et al* 2019) and as new components of the Cellulose Synthase Complex (CSC) (Kesten, García-Moreno, Amorim-Silva *et al* 2022), being the only component that shows a dynamic association with the CSC. TTLs present a dual localization in the cytoplasm and the plasma membrane-localized CSC. Interestingly, the TTL-CESA interaction at the plasma membrane significantly increased under conditions that cause reduced cellulose content, such as salt stress and structural alterations of the CSC. The relocalization of cytosolic TTLs to the active CSC is critical to reestablishing cellulose synthesis under stress conditions. We propose that TTLs act as bridges connecting stress-mediated cell wall modification with the regulation of cellulose biosynthesis.

Currently, we are investigating novel components involved in TTL function and how this protein family is regulated. Recently, we have identified the 14-3-3 proteins as interactors of TTL3. The 14-3-3s are a family of proteins conserved in eukaryotes that target a wide number of proteins (Huang *et al* 2022). Our results indicate that these proteins control TTL3 dynamics, reestablishing cellulose biosynthesis during episodes of salt stress.

References:

- Amorim-Silva, V. *et al.* 2019. TTL proteins scaffold brassinosteroid signaling components at the plasma membrane to optimize signal transduction in arabidopsis. *The Plant Cell*. 31, 1807-1828. <https://doi.org/10.1105/tpc.19.00150>
- Bar-On, Y.M., Phillips, R. & Milo, R. 2018. The biomass distribution on Earth. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 115, 6506-6511. <https://doi.org/10.1073/pnas.1711842115>
- Huang, Y. *et al.* 2022. The role of 14-3-3 proteins in plant growth and response to abiotic stress. *Plant Cell Rep.* 41(4):833-852. <https://doi.org/10.1007/s00299-021-02803-4>
- Kesten, C., García-Moreno, A., Amorim-Silva, V. *et al.* 2022. Peripheral membrane proteins modulate stress tolerance by safeguarding cellulose synthases. *Sci. Adv.*, eabq6971, 16 Nov 2022, Vol 8, Issue 46. <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.abq6971>

Acknowledgements: This work was funded by the Spanish Ministry for Science and Innovation (PID2020-114419RB-I00) and (PID2023-147983OB-I00) and the Andalusian Research Plan cofinanced by the European Union (UMA20-FEDERJA-023) to M.A.B.; V.A.-S. was supported by “Programa Emergia 2023” (DGP_EMEC_2023_00375): “Consejería de Universidad, Investigación e Innovación

de la Junta de Andalucía” and the European Union: European Social Fund Plus (ESF+). R.P.M. was supported by the Andalusian PEDOC_01435 fellowship. A.M. was supported by Shanghai Center for Plant Stress Biology.

Efectos región-específicos de la administración crónica y abstinencia de cannabinoides sintéticos en la señalización endocannabinoide, gliosis y neuroinflamación cerebral en modelos animales

Evelin Vadas^{1,2}, Antonio J. López-Gamero^{1,2,3}, Antonio Vargas^{1,4}, Miguel Rodríguez-Pozo^{1,5}, Patricia Rivera^{1,5}, Juan Decara^{1,4}, Antonia Serrano^{1,4}, Fernando Rodríguez de Fonseca^{1,2}, Juan Suárez^{1,5}

¹Instituto de Investigación Biomédica de Málaga y Plataforma en Nanomedicina-IBIMA Plataforma BIONAND, 29590 Málaga, Spain. ²Unidad Clínica de Neurología, Hospital Regional Universitario de Málaga, 29010 Málaga, Spain. ³INSERM, Neurocentre Magendie, University of Bordeaux, 33000 Bordeaux, France. ⁴UGC Salud Mental, Hospital Regional Universitario de Málaga, 29010 Málaga, Spain. ⁵Departamento de Anatomía Humana, Medicina Legal e Historia de la Ciencia, Universidad de Málaga, 29071 Málaga, Spain
E-mail: vadas.evelin@gmail.com

Resumen:

El uso de cannabinoides sintéticos es preocupante por su alta potencia, además pueden tener efectos negativos sobre el sistema nervioso central. Este estudio investiga los efectos de la administración crónica (14 días, dos veces diarias) y de la abstinencia (7 días) de dos cannabinoides sintéticos: HU-210 y WIN 55,212-2, en la expresión génica y proteica de componentes del sistema endocannabinoide (SEC) y en los marcadores gliales e inflamatorios en distintas regiones cerebrales de ratas macho Wistar.

Se analizaron cinco regiones cerebrales: corteza prefrontal (CPF), hipocampo, hipotálamo, cerebelo y estriado. Se utilizaron técnicas de RT-qPCR y Western blot para cuantificar receptores CB1, CB2, PPAR α , enzimas: DAGL α/β , MAGL, FAAH y NAPE-PLD, y marcadores de gliosis/inflamación (IBA1, GFAP, *Ptgs2*, *Rela*, *Il-1 β* , *Ikbkb*). Los resultados se analizaron mediante ANOVA de dos vías y correlación Spearman.

En la CPF, la administración repetida de HU-210 redujo la expresión de CB1 y PPAR α , mientras WIN 55,212-2 disminuyó la expresión de CB2, DAGL β , NAPE-PLD, NF- κ B, IKK β y *Ptgs2*. La abstinencia de los fármacos redujo la expresión de CB1, DAGL α/β , MAGL, FAAH e IBA1. En el hipocampo y cerebelo los fármacos inducen un aumento de marcadores inmunitarios, que disminuyen tras la abstinencia. Sin embargo, en el estriado la inflamación persistió después de la abstinencia, junto con aumentos de las enzimas del SEC. En el hipotálamo, la administración repetida redujo la expresión del receptor CB1 y de proteínas del SEC, los cuales aumentan durante la abstinencia.

Los resultados muestran que HU-210 provoca una mayor respuesta de abstinencia que WIN 55,212-2, con una mayor hipersensibilización del SEC. Además, se observó que la respuesta neuroinflamatoria inducida por ambos compuestos no se revirtió completamente tras la abstinencia.

Conclusión:

Este trabajo demuestra que los cannabinoides sintéticos causan alteraciones en el sistema endocannabinoide, y una activación neuroinflamatoria región-específica que persisten parcialmente tras el cese de consumo. Estos hallazgos, en línea con los estudios recientes (Vadas et al., 2025), aportan nuevas evidencias sobre los riesgos

del consumo prolongado de estas sustancias. Además, contribuyen a un mejor entendimiento de los procesos moleculares involucrados, para poder avanzar en el desarrollo de los tratamientos dirigidos a trastornos neuropsiquiátricos relacionados con el sistema endocannabinoide.

Referencias:

Vadas, E., López-Gamero, A.J., Vargas, A., Rodríguez-Pozo, M., Rivera, P., Decara, J., Serrano, A., Martín-de-las-Heras, S., Rodríguez de Fonseca, F., & Suárez, J. (2025). Region-Specific Impact of Repeated Synthetic Cannabinoid Exposure and Withdrawal on Endocannabinoid Signaling, Gliosis, and Inflammatory Markers in the Prefrontal Cortex and Hippocampus. *Biomolecules*, 15(3), 417. <https://doi.org/10.3390/biom15030417>

Agradecimientos y financiación: La autora agradece el apoyo y la supervisión del Dr. Juan Suárez Pérez, el Dr. Fernando Rodríguez de Fonseca y la Dra. María Margarita Pérez Martín, así como al Grupo de Investigación en Neuropsicofarmacología (CTS-433, IBIMA). Esta investigación ha sido financiada por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), proyectos PI22/00427 y PI20/01399; por la red RICORS-RIAPAD, proyectos RD21/0009/0003 y RD24/0003/0012; y por el programa ISCIII-FORTALECE, proyecto FORT23/00013, todos ellos cofinanciados por la Unión Europea. Fondos adicionales provienen del Plan Nacional sobre Drogas (PNSD 2022/020) y de la Consejería de Universidad, Investigación e Innovación de la Junta de Andalucía (PI21/00291). También se agradece el apoyo institucional del Instituto de Investigación Biomédica de Málaga (IBIMA Plataforma BIONAND).

Transformación digital de la gestión agrícola: teledetección aplicada a cultivos arbóreos

Pablo Quesada Molina¹, Miguel Ángel Quesada², Antonio J Matas³

¹ *Mejora biotecnológica de cultivos subtropicales y clima templado, Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea (IHSM-UMA-CSIC).* ² *Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga*
E-mail: pabquemol@uma.es

La transformación digital del sector agrícola pasa necesariamente por la integración de tecnologías de observación remota como la teledetección, que permite la recogida no intrusiva de datos biofísicos sobre el terreno a través de sensores satelitales, drones o dispositivos IoT (Pradipta et al., 2022). Este proyecto de investigación doctoral se centra en el desarrollo y aplicación de metodologías basadas en teledetección para la mejora del manejo de cultivos arbóreos, con un enfoque práctico orientado a especies subtropicales como el aguacate y el mango en el contexto agroclimático de cambio climático en áreas con recursos hídricos limitados, como es el del sur de España.

El trabajo integra el conocimiento geoespacial y biotecnológico para diseñar herramientas que permitan transformar datos espectrales y ambientales en información agronómica útil. Se parte de la caracterización espectral de la vegetación, aplicando índices como NDVI y NDRE (Quesada-Molina et al., 2022), con el objetivo de identificar el estado vegetativo, la vigorosidad y las variaciones intra-parcela que condicionan la productividad. El uso combinado de imágenes satelitales de alta resolución (ej. Sentinel-2, Pleiades Neo) y plataformas aéreas no tripuladas (UAVs) permite contrastar y validar las métricas obtenidas, analizando las diferencias de resolución espacial, temporal, espectral y radiométrica en función de las necesidades agronómicas concretas (Zarco-Tejada et al., 2014).

Entre los desarrollos metodológicos más relevantes se incluye la segmentación automática de copas arbóreas en fincas de producción intensiva (almendro y pistacho), mediante algoritmos de clasificación de imágenes multiespectrales. Este análisis ha permitido estimar biomasa aérea, evaluar heterogeneidad productiva y predecir el rendimiento esperado a partir del tamaño de copa y la densidad de plantación, superando las 300.000 detecciones en fincas de más de 1.000 hectáreas. En paralelo, se ha aplicado análisis de clústeres para la zonificación de parcelas en función de parámetros espectrales y biomasa aérea, lo que facilita una gestión diferenciada y más eficiente (Sandonís-Pozo et al., 2022).

Una de las líneas más innovadoras del proyecto es la comparación entre sensores embarcados en drones y satélites en cuanto a su capacidad de diagnóstico fenológico y seguimiento temporal del cultivo. La resolución temporal, fundamental para monitorizar procesos como la floración o el estrés hídrico, sitúa al satélite como una herramienta estratégica, especialmente cuando se requiere análisis histórico o escalabilidad. No obstante, los sensores IoT y el dron sigue siendo insustituible para tareas de validación de campo y estudios de ultra alta resolución.

A futuro, el proyecto contempla la integración de datos RADAR como fuente adicional para el análisis de la estructura vegetal en condiciones de nubosidad o baja visibilidad, así como el desarrollo de modelos predictivos mediante inteligencia artificial.

Referencias:

- Pradipta, A., Soupios, P., Kourgialas, N., Doula, M., Dokou, Z., Makkawi, M., ... & Yassin, M. (2022). Remote sensing, geophysics, and modeling to support precision agriculture—part 2: irrigation management. *Water*, 14(7), 1157. <https://doi.org/10.3390/w14071157>
- Quesada-Molina, P., Jiménez, F. B. G., Cueto, F. J. L., & Muñoz, D. G. (2022). Uso de imágenes Sentinel 2 para la monitorización agroambiental de cultivos subtropicales utilizando Machine Learning e Índices de Vegetación. En *TIG al servicio de los ODS* (pp. 106-115). Prensas de la Universidad de Zaragoza. <https://doi.org/10.26754/uz.978-84-18321-49-8>
- Sandonís-Pozo, L., Llorens, J., Escolà, A., Arnó, J., Pascual, M., & Martínez-Casasnovas, J. A. (2022). Satellite multispectral indices to estimate canopy parameters and within-field management zones in super-intensive almond orchards. *Precision Agriculture*, 23(6), 2040-2062. <https://doi.org/10.1007/s11119-022-09956-6>
- Zarco-Tejada, P. J., Hubbard, N., & Loudjani, P. (2014). Precision agriculture: an opportunity for EU farmers—potential support with the CAP 2014–2020. Joint Research Centre (JRC) of the European Commission. Disponible en <https://policycommons.net/artifacts/1339069/precision-agriculture/1948411/>

Agradecimientos: Este trabajo conto con el apoyo de la empresa AGRON S.C.A, el Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal y el Programa de Doctorado en Biotecnología Avanzada. Los autores quieren agradecer a Carmen Arroyo Gómez y Antonio Matas Gordo por facilitar y garantizar el acceso a las parcelas de cultivo.

Caracterización de respuestas fisiológicas y moleculares al déficit hídrico en fresa (*Fragaria* × *ananassa* Duch.) y avances en el desarrollo de herramientas biotecnológicas de mejora

Sara Aguado Delgado¹, José A. Mercado-Hornos¹, M^a Dolores Moreno Recio², Facundo Spadoni Revol², Antonio J. Matas¹, Sara Posé¹, Juan Muñoz-Blanco², Rosario Blanco-Portales², José A. Mercado¹

¹Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea 'La Mayora' (IHSM-UMA-CSIC), Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal, Universidad de Málaga, 29071. ²Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad de Córdoba, 14071
E-mail: saraaguadodelgado@uma.es

El aumento de la temperatura y la disminución de los recursos hídricos previstos en los modelos de cambio climático afectarán directamente a la productividad y calidad de cultivos como la fresa, siendo España el sexto mayor productor a nivel mundial (FAOSTAT, 2021). Dada su elevada sensibilidad al déficit hídrico, resulta esencial identificar y caracterizar genes y mecanismos que favorezcan su resiliencia, garantizando su viabilidad a largo plazo en condiciones de aridez (Basu et al., 2016). En esta tesis doctoral se han llevado a cabo diferentes ensayos para evaluar la respuesta de la planta de fresa frente al déficit hídrico en un proyecto colaborativo entre las Universidades de Málaga y de Córdoba. En un primer ensayo, se analizó la respuesta de varios cultivares comerciales de *Fragaria* × *ananassa* Duch. bajo condiciones controladas de riego suficiente y deficitario, evaluándose el crecimiento vegetativo de la planta, la respuesta fotosintética, así como la producción y calidad del fruto. Paralelamente, se llevaron a cabo ensayos de estrés severo a corto plazo mediante la aplicación de polietilenglicol (PEG) en plantas en desarrollo, ajustando las condiciones de estos tratamientos con el IRGA. De ambos ensayos se extrajo ARN para realizar análisis de RNAseq, identificando genes diferencialmente expresados (DEGs) bajo estrés hídrico. Actualmente, se está trabajando en la selección y caracterización funcional de genes relevantes en la respuesta al estrés mediante generación de plantas transgénicas de fresa y *N. benthamiana* como modelos experimentales (Crizel et al., 2020).

En los ensayos de PEG, se identificaron diversos factores de transcripción (FT) pertenecientes a familias como MYB, WRKY, AP2, NAM y ZNF11. Tras su validación por qRT-PCR, se seleccionaron *FaWRKY1* y *FaWRKY18* para su caracterización funcional mediante sobreexpresión en vectores binarios pK7WG2. Con ellos se han desarrollado plantas transgénicas estables en ambas especies, actualmente en evaluación para confirmar su papel en la tolerancia a la sequía.

En los ensayos de invernadero, la restricción hídrica redujo significativamente el crecimiento vegetativo de las 4 variedades estudiadas (Chandler, Camarosa, Amiga y Rociera). Aunque no se detectaron diferencias significativas en la eficiencia en el uso del agua, se observó una tendencia de aumento de este parámetro en el cv. Chandler. La producción de frutos disminuyó drásticamente en todos los cultivares, siendo Rociera el más afectado (90% de reducción con respecto al control). Respecto a la calidad de fruto, se detectó un aumento en la firmeza en frutos del cv. Rociera y en el contenido de sólidos solubles del cv. Amiga. Actualmente, se está

analizando la expresión de genes diferencialmente expresados (DEGs) en hojas y frutos, prestando especial atención a FT de la familia WRKY.

Los próximos pasos de este proyecto de investigación incluyen repetir los ensayos de déficit hídrico para consolidar resultados y ampliar la diversidad genética analizada. Se estudiará en detalle la expresión de genes WRKY en los datasets de las dos aproximaciones experimentales utilizadas para establecer comparativas funcionales entre ambas condiciones de estrés. Asimismo, se avanzará en la caracterización funcional de los genes seleccionados mediante análisis fisiológicos, metabólicos y transcriptómicos de las plantas transgénicas generadas. Estos avances permitirán identificar nuevas herramientas biotecnológicas que contribuyan a la resiliencia y viabilidad del cultivo de fresa en escenarios futuros de cambio climático (Crizel et al., 2020).

Referencias:

- Basu, S., Ramegowda, V., Kumar, A., & Pereira, A. (2016). Plant adaptation to drought stress. *F1000Research*, 5, 1554. <https://doi.org/10.12688/f1000research.7678.1>
- Crizel, R. L., Perin, E. C., Rombaldi, C. V., & Galli, V. (2020). Biotechnology and strawberry improvement: Reviewing the past, discussing the present and prospecting into the future. *Embrapa Clima Temperado-Artigo em periódico indexado (ALICE)*.
- FAOSTAT. (2021). Agricultural Data. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/en/>

Financiación: Este trabajo ha sido financiado por los proyectos PID2020-118468RB-C2, PID2023-149550OB-C3 MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y FEDER, "Una manera de hacer Europa". Sara Aguado ha sido financiada con la ayuda predoctoral PRE2021-100068. Los autores agradecen al centro IFAPA de Málaga por facilitar el uso de sus instalaciones y equipos para la realización de este trabajo de investigación.

Análisis del secretoma extracelular de especies fitopatógenas del complejo *Pseudomonas syringae*: implicaciones funcionales de proteínas con dominios LysM

Hilario Domínguez-Cerván^{1,2}, Cayo Ramos^{1,2}, Luis Rodríguez-Moreno^{1,2}.

¹ Área de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Bulevar Louis Pasteur 31, Campus Teatinos, E-2910 Málaga, España. ² Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea "La Mayora", Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA- CSIC), Málaga, España.

E-mail: lgrodriguez@uma.es

Las bacterias fitopatógenas utilizan diversos mecanismos moleculares para colonizar e inducir síntomas en sus respectivos hospedadores. Entre ellos, uno de los más destacados y ampliamente estudiados es el sistema de secreción tipo III (T3SS), que permite la translocación de efectores (T3Es) al citoplasma de la célula huésped, donde desempeñan funciones esenciales para la infección, como la supresión de las respuestas inmunitarias (Espinosa & Alfano, 2004). Además de la translocación de T3Es, la secreción de proteínas al espacio extracelular durante las fases iniciales de la infección desempeña un papel clave en la virulencia bacteriana. Sin embargo, la caracterización de estas proteínas secretadas de forma independiente del T3SS sigue siendo limitada en bacterias fitopatógenas.

Este trabajo se enfoca en analizar el secretoma y las vesículas de membrana (MVs, del inglés, *Membrane Vesicles*) de tres cepas fitopatógenas del complejo *Pseudomonas syringae*: *P. savastanoi* pv. *savastanoi* (Psv) NCPPB 3335 aislada de olivo, *P. savastanoi* pv. *phaseolicola* (Pph) 1448A, aislada de judía y *P. syringae* pv. *tomato* (Pto) DC3000 aislada de tomate, junto con sus respectivos mutantes $\Delta hrpA$ y $\Delta hrpL$ incapaces de ensamblar y expresar un T3SS funcional, respectivamente. El aislamiento de los secretomas y de las MVs se realizó en condiciones *in vitro*, utilizando un medio de cultivo que simula las condiciones fisicoquímicas del apoplasto vegetal. Posteriormente, el contenido proteico de las muestras se analizó mediante espectrometría de masas, y a partir de estos datos se llevaron a cabo análisis comparativos y enriquecimientos funcionales mediante herramientas bioinformáticas, lo que permitió clasificar las categorías funcionales mayoritariamente representadas en cada uno de los secretomas y fracciones de MVs. Entre estas categorías destacó la abundancia de proteínas implicadas en la interacción con polisacáridos, entre las que se identificaron cinco proteínas con dominios LysM (LysM1-LysM5). Análisis funcionales predictivos realizados con STRING revelaron dos grupos funcionales claramente diferenciados: LysM1, LysM2 y LysM4, relacionadas con el ensamblaje del pili tipo IV, y LysM3 y LysM5, asociadas a la remodelación del peptidoglicano durante la división celular.

Se generaron mutantes para las cinco proteínas LysM en Psv NCPPB 3335 y se evaluó su capacidad de colonización en plantas de olivo tanto *in vitro* como *ex vitro*. Los mutantes mostraron una disminución significativa de la colonización del tejido vegetal en comparación con la cepa silvestre. Ensayos de motilidad tipo *twitching* y *swimming* realizados con los mutantes *lysM1*, *lysM2* y *lysM4* de Psv revelaron una reducción significativa en ambos tipos de motilidad en el mutante *lysM1*. Por otro lado, estudios de microscopía confocal y citometría de flujo

evidenciaron alteraciones morfológicas severas en los mutantes *lysM3* y *lysM5*. Asimismo, las proteínas LysM3 y LysM4 se purificaron para realizar su caracterización funcional y estructural. Ensayos de fluorimetría diferencial confirmaron la capacidad de LysM3 para interactuar con componentes específicos de la pared celular bacteriana. Además, ensayos de inhibición del crecimiento bacteriano demostraron que LysM3 tiene actividad bacteriostática frente a bacterias Gram-negativas como *Pantoea agglomerans* y *Erwinia toletana*, cohabitantes de Psv en tumores del olivo (Hosni et al., 2011). Finalmente, la resolución cristalográfica de la proteína LysM4 de Psv permitió identificar un dominio funcional novedoso, implicado en el ensamblaje y estabilización del pili tipo IV. En conjunto, estos hallazgos destacan el papel clave de las proteínas LysM en diversos procesos biológicos, incluidos la fisiología bacteriana, la virulencia y la competencia microbiana. Su implicación en funciones esenciales para la patogénesis de bacterias fitopatógenas resalta su relevancia como posibles dianas en el desarrollo de nuevas estrategias de control biológico.

Referencias:

- Espinosa, A., and Alfano, J. R. (2004). Disabling surveillance: Bacterial type III secretion system effectors that suppress innate immunity. *Cell. Microbiol.* 6, 1027–1040. <https://doi.org/10.1111/j.1462-5822.2004.00452.x>
- Hosni, T., Moretti, C., Devescovi, G., Suarez-Moreno, Z. R., Fatmi, M. B., Guarnaccia, C., et al. (2011). Sharing of quorum-sensing signals and role of interspecies communities in a bacterial plant disease. *ISME J.* 5, 1857–1870. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.65>

Financiación: Este trabajo ha sido financiado por los proyectos PID2020-115177RB-C21 (MICINN-FEDER) y P20- 00122 (Junta de Andalucía-FEDER), así como por la beca predoctoral PRE2021-099113 (MICIN)

PÓSTERES

Determinantes de virulencia de *Pseudomonas savastanoi* asociados a huéspedes leñosos

Antonio Arroyo-Mateo^{1,2}, Luis Rodríguez-Moreno^{1,2}, Cayo Ramos^{1,2}

¹ Área de Genética, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga. ² Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea "La Mayora", Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC).
E-mail: antonioam@uma.es

Pseudomonas savastanoi, que pertenece al complejo *Pseudomonas syringae*, abarca patovares (pv.) cuyas cepas se han aislado exclusivamente de huéspedes leñosos. Se han caracterizado factores de virulencia presentes únicamente en estas cepas, utilizando como modelo *P. savastanoi* pv. *savastanoi* (Psv) NCPPB 3335, el agente causal de la tuberculosis del olivo. Destacan los efectores del sistema de secreción tipo III (T3SS) HopBL1 y HopBL2 cuya disrupción en una cepa de *P. savastanoi* pv. *nerii* provocó una reducción significativa de los síntomas en adelfa, su huésped natural. Asimismo, se analizó la región genómica WHOP (*Woody Host and Pseudomonas*), implicada en el catabolismo de compuestos aromáticos y esencial para la virulencia de Psv NCPPB 3335. Se ha confirmado su implicación en la degradación de indol, función previamente descrita en ortólogos presentes en *Acinetobacter* spp. Se identificó a WhpR como un regulador negativo de la WHOP. Además, un mutante $\Delta whpR$ de Psv mostró un fenotipo hipervirulento. También estudiamos la producción de ácido indol-3-acético (IAA), implicado tanto en la formación de tumores como en la modulación del T3SS y la WHOP. Aunque la principal vía de producción de IAA en Psv NCPPB 3335 es la de la indol-3-acetamida (operón *iaaMH*), se está investigando una posible vía alternativa mediada por aldehído deshidrogenasas (aldolasas). En conjunto, esta Tesis Doctoral resalta mecanismos de virulencia exclusivos de bacterias patógenas de huéspedes leñosos asociados al T3SS, al catabolismo de compuestos indólicos y su modulación por el IAA.

Financiación: Financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación, proyecto PID2020-115177RB-C21/AEI/10.13039/501100011033, co-financiado por FEDER y P20-00122 (Junta de Andalucía-FEDER)

Characterizing melanoma tumor microenvironment at the single cell level

Cristina Viúdez-Pareja^{1,2}, Julia Martínez³, Mitchell Levesque³, Melissa García-Caballero^{1,2}

¹ Departament of Molecular Biology and Biochemistry, Faculty of Sciences, University of Málaga, Spain. ² IBIMA - Plataforma Bionand, Spain. ³ Departament of Dermatology, University Hospital Zurich, Switzerland
E-mail: cviudez@uma.es

The tumor microenvironment (TME) plays an important role in cancer progression, metastasis, and response to therapy (de Visser, & Joyce, 2023). One of the key elements of the TME are endothelial cells (ECs), which line blood and lymphatic vessels. Tumor vasculature has a dual role in tumor development: it provides cancer cells with nutrients, oxygen and a route for dissemination, but it also modulates anti-tumor immune responses (Fang et al., 2023). To characterize the role of ECs in melanoma TME, we performed single-cell RNA sequencing in samples of metastatic cutaneous melanoma from 14 patients. ECs were isolated for further *in silico* characterization. Gene set variation analysis (GSVA) was performed, and differential pathway expression was assessed to study differences in ECs across tumor stages and genetic backgrounds. Inter-patient heterogeneity in the cell type composition of the TME was observed. In the EC dataset, seven clusters were identified, including lymphatic endothelial cells and subtypes of blood endothelial cells. Vasculature of samples from different tumor stages and genetic backgrounds showed distinct pathway expression profiles. Overall, these preliminary results reveal the complexity of melanoma TME and the heterogeneity of vasculature among patients, tumor stages and genetic backgrounds. Understanding the role of ECs in the TME is crucial for the improvement of cancer therapies and the development of new therapeutic strategies.

References:

- Fang, J., et al. (2023). Exploring the crosstalk between endothelial cells, immune cells, and immune checkpoints in the tumor microenvironment: new insights and therapeutic implications. *Cell death & disease*, 14(9), 586. <https://doi.org/10.1038/s41419-023-06119-x>
- de Visser, K. E., & Joyce, J. A. (2023). The evolving tumor microenvironment: From cancer initiation to metastatic outgrowth. *Cancer cell*, 41(3), 374–403. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2023.02.016>

Funding: Ayuda predoctoral de la Asociación Española Contra el Cáncer 2023. Proyecto LABAECC, Asociación Española Contra el Cáncer (LABAE211691GARC)

Unifying Precision Medicine and Exploratory Analysis for Rare Disease Mechanism Discovery

Federico García Criado, Pedro Seoane Zonjic y Juan Antonio García Ranea

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, UMA

E-mail: federogc98@uma.es

This work summarizes the main advances of my PhD thesis, structured around two complementary approaches. The first focuses on precision medicine to identify the genetic causes of rare diseases and predict potential compensatory mechanisms. We developed a meta-prioritization framework that integrates six leading variant/gene prioritization tools (e.g., Exomiser (Smedley et al., 2015), LIRICAL (Robinson et al., 2020) using supervised learning, enhancing the detection of causative variants via phenotypic, functional, and population data. We also implemented a network-based machine learning pipeline to predict compensatory genes, successfully identifying known mechanisms in diseases like Duchenne muscular dystrophy and spinal muscular atrophy.

The second approach centers on exploratory analysis of disease biology through dimensionality reduction techniques applied to RNA-seq and network data. We used graph embeddings to integrate protein–protein interactions with gene expression in neuromuscular diseases, and introduced a novel method using Hierarchical Link Clustering (Ahn et al., 2010) to detect community-aware disease modules, applied to RASopathies. For vectorial data, we combined PCA with multi-omics integration in PMM2-CDG, identifying molecular patterns linked to disease severity and enabling patient stratification. Together, these approaches offer a framework for both causal discovery and therapeutic insight in rare diseases.

References:

- Ahn, Y. Y., Bagrow, J. P., & Lehmann, S. (2010). Link communities reveal multiscale complexity in networks. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/nature09182>
- Robinson, P. N., Ravanmehr, V., Jacobsen, J. O. B., Danis, D., Zhang, X. A., Carmody, L. C., Gargano, M. A., Thaxton, C. L., Karlebach, G., Reese, J., Holtgrewe, M., Köhler, S., McMurry, J. A., Haendel, M. A., & Smedley, D. (2020). Interpretable Clinical Genomics with a Likelihood Ratio Paradigm. *American Journal of Human Genetics*. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2020.06.021>
- Smedley, D., Jacobsen, J. O. B., Jäger, M., Köhler, S., Holtgrewe, M., Schubach, M., Siragusa, E., Zemojtel, T., Buske, O. J., Washington, N. L., Bone, W. P., Haendel, M. A., & Robinson, P. N. (2015). Next-generation diagnostics and disease-gene discovery with the Exomiser. *Nature Protocols*, 10(12), 2004–2015. <https://doi.org/10.1038/NPROT.2015.124>

Funding: Federico García Criado cuenta con el apoyo del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (FPU21/01449).

Gene variants controlling natural variation of sugar content in strawberry fruit

F. Javier Roldán-Guerra¹, Cristina Castillejo¹, José Luis Ordóñez-Díaz², José M. Moreno-Rojas^{2,3}, José F. Sánchez-Sevilla^{1,4}, Iraida Amaya^{1,4}.

¹ Centro IFAPA de Málaga, Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA), Málaga, Spain. ² Departamento de Agroindustria y Calidad Alimentaria, centro IFAPA Alameda del Obispo, Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA), Córdoba, Spain. ³ Foods for Health Group, Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC), Córdoba, Spain. ⁴ Unidad Asociada de I+D+i IFAPA-CSIC Biotecnología y Mejora en Fresa, Málaga, Spain.

Email: franciscoj.roldan.guerra@juntadeandalucia.es

Sugars are among the main compounds driving strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) fruit flavor. Therefore, to meet market demands, increasing sweetness is a priority goal in breeding programs. We have analyzed during two seasons a diverse selection of 128 accessions from the *Fragaria* germplasm collection at IFAPA in Málaga. Genome-wide association analysis (GWAS) revealed a total of 39 significant marker-trait associations ($-\log_{10}$ p-value ≥ 6) for solid soluble content (SSC) -estimated by digital refractometry- and individual sugars (fructose, glucose and sucrose) quantified by HPLC-RID. Among them, we focused on a major QTL in 5B chromosome for SSC, and a major QTL for the three individual sugars at the bottom of 7B chromosome. QTL intervals were 1 and 1.3 Mb long respectively and explained 20 to 50% of phenotypic variation depending on the trait, year and model. Kompetitive Allele Specific PCR (KASP) markers designed for both QTLs proved to be highly predictive for SSC and individual sugar content, representing a valuable tool for marker-assisted selection (MAS).

Candidate genes for the 7B QTL were selected according to annotated function and expression levels. Interestingly, the deletion of an invertase gene was associated with sucrose accumulation. Opposite effects were observed for fructose and glucose, supporting the role of this invertase in controlling sugar levels. Transient transformation experiments will validate the role of this gene over this trait.

References:

Zorrilla-Fontanesi et al. Genetic analysis of strawberry fruit aroma and identification of O-methyltransferase FaOMT as the locus controlling natural variation in mesifurane content. *Plant Physiol.* 159, 851–870 (2012). <https://doi.org/10.1104/pp.112.900437>

Funding: This work was supported by grant PID2022-138290OR-I00/MICIU/AEI/10.13039/501100011033/ FEDER UE and the EU H2020 research and innovation programme (BreedingValue project, 101000747). Francisco Javier Roldán acknowledges a PhD FPI PRE2020-094454 grant funded by MICIU/AEI /10.13039/501100011033 and FSE. The IFAPA *Fragaria* collection is funded by IFAPA Project PR.CRF.CRF202200.002 from the European Agricultural Fund for Rural Development.

Influence of light quality and nutrients on coloration, internal compounds and physiology of *Chondracanthus teedei* var. *lusitanicus*

Ignacio Moreu¹, María José Romero ¹, Fini Sánchez-García ², María López-Parages¹, Nathalie Korbee¹, Félix Figueroa¹, Ricardo Bermejo¹

¹ Universidad de Málaga, Instituto andaluz de Biotecnología y Desarrollo Azul (IBYDA), Lomas de San Julián, 2.E-29004 Málaga, Spain. ² Departamento de ingeniería química y tecnología de los alimentos, Universidad de Cádiz, Cádiz.
E-mail: i.moreu@uma.es

This study explores the impact of light quality and nutrient availability on the coloration, internal compounds and physiological performance of *Chondracanthus teedei* var. *lusitanicus*, a red alga with significant potential in the food industry.

Seaweeds were exposed to four different light qualities (Blue, Green, Amber, and Red) and two nutrient conditions. Growth rates, pigment and protein content, photosynthetic performance and internal carbon and nitrogen content were determined.

Results indicated that nitrogen availability influenced coloration, leading to three distinct morphotypes: bluish-green in all full enrichment treatment, dark green under blue light and half enrichment, and pale green under green, amber, and red lights with half enrichment. Blue light combined with full nutrient enrichment increased pigment content whereas red light marginally promoted growth rates under both nutrient conditions. Nitrogen availability was the most influential factor since nitrogen deficiency led to depigmentation and negatively affected photosynthetic performance. This study demonstrates the effectivity of manipulating light quality and nutrient availability to modify the appearance and biochemical composition of *C. teedei*. The findings emphasize the importance of environmental factors in macroalgal cultivation, providing insights for developing short-term cultivation protocols to produce high-quality, visually appealing seaweed biomass for gastronomy use.

Acknowledgement: This research was financed by the Ministry of Science and Innovation of Spain Government (Alga Hub Project TED2021-131555B-C22) and the Campus de Excelencia Internacional del Mar, CEImar (project CEI-JD-18 | PRTR). The contract of I. Moreu is financed by the Andalusia Government through the Project IBYDA-Nutricos (JA.A1.3-04).

Autotaxina como diana para potenciar la inmunoterapia en el cáncer de vejiga

Ismael Aranda Bravo^{1,2}, Valentina Wandel Petersen², Mercedes Pérez Escavy⁴, Cristian Suárez Cabrera⁴, Alejandro Rego Calvo^{1,2}, Tahia D Fernández Duarte^{1,2}, Bernardo Herrera Imbroda³, Jesús M Paramio González⁴, Elisa Matas Rico^{1,2}.

¹ IBIMA Plataforma BIONAND, Málaga. ² Departamento de Biología Celular, Genética y Fisiología, Universidad de Málaga, Málaga. ³ Unidad de Urología, Hospital Universitario Virgen de la Victoria, Málaga. ⁴ División de oncología molecular y traslacional, CIEMAT, Madrid.
E-mail: ismaelaranda@uma.es

El cáncer de vejiga, especialmente en su forma músculo-invasiva y metastásica, presenta una alta incidencia y mortalidad. Aunque la inmunoterapia con anti-PD1/PDL1 ha resultado en respuestas clínicas duraderas en algunos pacientes, la mayoría desarrolla resistencia primaria o adquirida, relacionadas con cambios en el microambiente tumoral y la activación de vías inmunosupresoras. En este contexto, la enzima autotaxina (ATX) actúa como mediador clave de inmunosupresión al impedir la infiltración de linfocitos CD8⁺ citotóxicos mediante la producción de ácido lisofosfatídico (LPA). En este estudio evaluamos la combinación de inhibidores de ATX con terapia anti-PDL1 en un modelo murino transgénico de cáncer de vejiga músculo-invasivo. El tratamiento combinado controló el crecimiento tumoral y contrarrestó eficazmente los efectos inmunosupresores asociados a la señalización ATX/LPA y PD1/PDL1. Los resultados preliminares indican una remodelación del microambiente tumoral acompañada de una activación de la respuesta inmune antitumoral. Además, los efectos observados sugieren una interacción sinérgica entre ambas vías de señalización y refuerzan esta estrategia terapéutica como prometedora en el cáncer de vejiga avanzado.

Referencias:

- Matas-Rico, E., Frijlink, E., van der Haar Àvila, I., Menegakis, A., van Zon, M., Morris, A. J., Koster, J., Salgado-Polo, F., de Kivit, S., Lança, T., Mazzocca, A., Johnson, Z., Haanen, J., Schumacher, T. N., Perrakis, A., Verbrugge, I., van den Berg, J. H., Borst, J., & Moolenaar, W. H. (2021). Autotaxin impedes anti-tumor immunity by suppressing chemotaxis and tumor infiltration of CD8⁺ T cells. *Cell reports*, 37(7), 110013. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.110013>
- Konen, J. M., Rodriguez, B. L., Wu, H., Fradette, J. J., Gibson, L., Diao, L., Wang, J., Schmidt, S., Wistuba, I. I., Zhang, J., & Gibbons, D. L. (2023). Autotaxin suppresses cytotoxic T cells via LPAR5 to promote anti-PD-1 resistance in non-small cell lung cancer. *The Journal of clinical investigation*, 133(17), e163128. <https://doi.org/10.1172/JCI163128>

Agradecimientos y financiación: Trabajo financiado por el proyecto PID2021-125385OB-I00 y la ayuda para la Formación de Personal Investigador (FPI: PRE2022- E2022-104595) del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades.

Characterization of olive varieties differing in their tolerance to *Xylella fastidiosa*: Cell wall composition

Jerónimo Coto-Elena, Elena Palomo-Ríos, Fernando Pliego-Alfaro, Sara Posé, José A. Mercado, Candelas Paniagua.

*Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea (IHSM-UMA-CSIC). Departamento de Botánica y Fisiología Vegetal, Universidad de Málaga, 29071, Málaga, Spain.
E-mail: coto@uma.es*

Xylella fastidiosa is a Gram-negative, xylem-limited bacterium that infects a wide range of host plants, including key crops like grape, olive, and citrus. In olive trees, it causes Olive Quick Decline Syndrome (OQDS) by blocking xylem vessels and restricting water flow. The bacterium adheres to vessel walls, forming a biofilm matrix that, along with the plant's defence mechanisms such as gum, pectin gel, and tylose deposition contributes to vessel occlusion (Sabella et al. 2024).

Anatomical differences in xylem vessels have been linked to ***X. fastidiosa*** susceptibility. Sabella et al. (2024) found that a susceptible olive cultivar had more large-diameter vessels than a resistant genotype. Additionally, cell wall composition may play a role in resistance; previous research showed that wild olive genotypes resistant to *Verticillium dahliae* (another xylem-limited pathogen) had higher phenolic content and distinct lignin composition compared to susceptible ones (Mascuñano et al., 2025).

Based on these studies, we analyzed the anatomical differences in xylem vessels and the cell wall composition of resistant and susceptible olive varieties under both control conditions and infection with *Xylella fastidiosa*. Our results showed no significant differences in xylem vessel size, contrary to the conclusions of Sabella et al. (2024). However, the characterization of cell wall composition provided insight into possible structural changes occurring in the plant during infection.

References:

- Mascuñano, B., Coto-Elena, J., Guerrero-Sánchez, V.M. et al. Transcriptome analysis of wild olive (*Olea Europaea* L. subsp. *europaea* var. *sylvestris*) clone AC18 provides insight into the role of lignin as a constitutive defense mechanism underlying resistance to *Verticillium* wilt. *BMC Plant Biol* **25**, 292 (2025). <https://doi.org/10.1186/s12870-025-06301-7>
- Sabella, E., Buja, I., Negro, C., Vergine, M., Cherubini, P., Pavan, S., Maruccio, G., De Bellis, L., & Luvisi, A. (2024). The Significance of Xylem Structure and Its Chemical Components in Certain Olive Tree Genotypes with Tolerance to *Xylella fastidiosa* Infection. *Plants*, *13*(7), 930. <https://doi.org/10.3390/plants13070930>

Funding: Research actions for reducing the impact on agricultural and natural ecosystems of the harmful plant pathogen *Xylella fastidiosa*" (Reach-XY), Italian Ministry of the University and Research

Fosforilación ordenada y secuencial de KSR1 determinada mediante anticuerpos fosfoespecíficos

Adrián A. Castillo-Domínguez^{1,2}, José Lozano^{1,2}

¹ Dpto. Biología Molecular y Bioquímica, Universidad de Málaga. Campus de Teatinos s/n, 29071 Málaga; ² Instituto de Investigación Biomédica de Málaga y Plataforma en Nanomedicina-IBIMA, Plataforma Bionand, 29590 Málaga, Spain
E-mail: jlozano@uma.es

El *scaffold* molecular KSR (*Kinase Suppressor of Ras*), es un modulador positivo de la ruta de señalización Ras/Raf/MEK/ERK, esencial para la transmisión de señales celulares de tipo proliferativo que, al interaccionar simultáneamente con las tres quinasas de la cascada (Raf, MEK y ERK), favorece la transmisión de la señal facilitando la activación de ERK (Brennan et al. 2011; Lozano et al. 2003; Therrien et al. 1995). Está descrito que ERK fosforila a KSR1 en los residuos T260, T274, T320 y S443 (McKay, Ritt, and Morrison 2009). Se han generado tres anticuerpos policlonales diferentes, específicos para tres de los cuatro residuos fosforilados por ERK1/2 tanto *in vitro* como *in vivo* (anticuerpos anti-pKSR). Utilizando estos anticuerpos, se ha demostrado una fosforilación secuencial y ordenada de KSR1. La interacción de KSR1 con ERK1/2 a través del sitio de anclaje FxFP proporciona un punto de unión que permite que la fosforilación ocurra de manera ordenada y secuencial. También se han utilizado los anticuerpos anti-pKSR para determinar el estado de fosforilación de KSR1 *in vivo* mediante inmunohistoquímica en biopsias de tejido sano y tumores (de colon, mama y melanoma). Sorprendentemente, se han encontrado diferentes especies de fosfoKSR localizadas en distintas regiones subcelulares, lo que sugiere un papel en la regulación espaciotemporal de la función de KSR.

Referencias:

- Brennan, Damian F, Arvin C Dar, Nicholas T Hertz, William C H Chao, Alma L Burlingame, Kevan M Shokat, and David Barford. 2011. "A Raf-Induced Allosteric Transition of KSR Stimulates Phosphorylation of MEK." *Nature* 472(7343): 366–69. <https://doi.org/10.1038/nature09860>
- Lozano, José, Rosie Xing, Zhenzi Cai, Heather L Jensen, Carol Trempus, Willie Mark, Ron Cannon, and Richard Kolesnick. 2003. "Deficiency of Kinase Suppressor of Ras1 Prevents Oncogenic Ras Signaling in Mice." *Cancer research* 63(14): 4232–38. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12874031/>
- McKay, Melissa M, Daniel A Ritt, and Deborah K Morrison. 2009. "Signaling Dynamics of the KSR1 Scaffold Complex." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 106(27): 11022–27. <https://doi.org/10.1073/pnas.0901590106>
- Therrien, M, H C Chang, N M Solomon, F D Karim, D A Wassarman, and G M Rubin. 1995. "KSR, a Novel Protein Kinase Required for RAS Signal Transduction." *Cell* 83(6): 879–88. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90204-X](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90204-X)

Estudio de fenotipos patológicos en enfermedades raras

Jesús Pérez García, Pedro Seoane Zonjic, Juan Antonio García Ranea

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias, UMA

E-mail: perezgarcia_jesus94@hotmail.com, jesuspg94@uma.es

Existen más de 7000 enfermedades raras (EE.RR.), 80% genéticas, con más de 300 millones de casos en el mundo, con tiempos de diagnóstico superiores a 6 años y solo el 5% con tratamiento, debido a su baja prevalencia y falta de investigación (Moliner & Waligora, 2017).

Incorporar estrategias basadas en la biología de sistemas mejora el proceso de diagnóstico, con un claro beneficio para los pacientes. Por ello, esta tesis enfoca la atención en los fenotipos patológicos de pacientes con EE.RR., siendo la primera información disponible en estos casos, para proponer mejoras en la caracterización y diagnóstico de los pacientes. Existen ontologías (representaciones estructuradas de relaciones entre conceptos de un área del conocimiento) como la Human Phenotype Ontology (HPO) (Gargano et al., 2024), para describir el perfil fenotípico de un paciente, lo que permite usar relaciones ya conocidas como por ejemplo asociaciones gen-fenotipo. Además, fenotipar pacientes con la HPO tiene ventajas adicionales ya que existen algoritmos que pueden cuantificar la similitud fenotípica entre estos pacientes.

En esta tesis se presentan varias aproximaciones dependientes de redes, ontologías y modelos del lenguaje (ML). Estas son: 1) construcción de redes basadas en la coocurrencia de fenotipos implicados en las EE.RR y su aplicación en mejorar la precisión de algoritmos de priorización de genes causales, 2) uso de redes de coocurrencia para sugerir posibles fenotipos relevantes en la caracterización de un paciente y 3) mediante la combinación de la HPO y ML semánticos, desarrollar una metodología para la sugerencia de artículos relevantes a partir del perfil fenotípico de un paciente, previa anotación fenotípica de todo el corpus científico de PubMed.

Referencias:

- Gargano, M. A., Matentzoglou, N., Coleman, B., Addo-Lartey, E. B., Anagnostopoulos, A. V., Anderton, J., Avillach, P., Bagley, A. M., Bakštein, E., Balhoff, J. P., Baynam, G., Bello, S. M., Berk, M., Bertram, H., Bishop, S., Blau, H., Bodenstein, D. F., Botas, P., Boztug, K., ... Robinson, P. N. (2024). The Human Phenotype Ontology in 2024: Phenotypes around the world. *Nucleic Acids Research*, 52(D1), D1333–D1346. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad1005>
- Moliner, A. M., & Waligora, J. (2017). The European Union Policy in the Field of Rare Diseases. In M. Posada de la Paz, D. Taruscio, & S. C. Groft (Eds.), *Rare Diseases Epidemiology: Update and Overview* (pp. 561–587). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-67144-4_30

Financiación: Jesús Pérez-García is a predoctoral researcher supported with "contratos predoctorales para la formación de doctores" (PRE2022/000510) by the Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades.

Regulación de la topología de la cromatina por pequeños ARNs durante la adaptación de las plantas

Julia Llinares Gómez¹, Agustín Ibarra², Regina Mencía², Ileana Tossolini², Pablo A. Manavella¹

¹ Departamento de Mejora y Fisiología de Plantas, Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea "La Mayora" (IHSM CSIC-UMA), Málaga, España. ² Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (CONICET-UNL), Cátedra de Biología Celular y Molecular, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina
E-mail: juliallinares@uma.es

En plantas, los ARNs pequeños de interferencia (siARN) de 24 nucleótidos juegan un papel crucial en el control de transposones. Recientemente nuestro laboratorio ha encontrado que siARNs derivados de secuencias repetidas e invertidas (IRs) regulan la expresión de genes vecinos alterando la conformación de la cromatina. La combinación de técnicas de captura de la conformación de la cromatina asociada a secuenciación de alto rendimiento permitió identificar, a nivel genómico, numerosos IRs con capacidad regulatoria. Validaciones de elementos individuales, así como la remoción de estos IR mediante edición génica revelaron su relevancia y su impacto e importancia durante procesos de adaptación evolutiva de las plantas al medio.

En este proyecto doctoral hemos planteado identificar IRs como potenciales blancos biotecnológicos, centrándonos en aquellos involucrados en formación de bucles de cromatina en regiones del genoma que codifiquen proteínas importantes para la maduración de frutos y la respuesta a patógenos. Por otro lado, y como prueba de concepto de la utilidad de manipular IRs para cambiar la respuesta de la planta al entorno, estamos analizando diferentes genes de *Arabidopsis thaliana* asociados, y potencialmente regulados, a IRs cercanos. En particular, hemos seleccionado genes importantes para la respuesta de la planta a estrés salino, sequía y que controlan la germinación de semillas. Nuestros resultados muestran que en todos los casos seleccionados los IRs cercanos impactan la cromatina y expresión de genes cercanos y en consecuencia el fenotipo adaptativo de las plantas.

Agradecimientos: Agradezco al Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades del Gobierno de España por financiar este proyecto y, por medio de este, mi beca doctoral.

El estrés repetido por inmovilización previene los déficits de memoria asociados al alcohol en ratas adolescentes mediante la modulación de la expresión proteica y la fosforilación.

Julia Verheul-Campos, Laura Sánchez-Marín, Yolanda López, Francisco Javier Pavón, Juan Suárez, Antonia Serrano, Fernando Rodríguez de Fonseca
IBIMA-Plataforma BIONAND, Hospital Regional Universitario de Málaga, CIBERU, Universidad de Málaga.

E-mail: julia.verheul@ibima.eu

El consumo intensivo de alcohol durante la adolescencia se asocia con alteraciones en la señalización hipocampal y déficits de memoria en la edad adulta. En este estudio, evaluamos si un estrés leve previo (inmovilización repetida, PND32–36) puede prevenir estos efectos en ratas adolescentes sometidas a binge drinking (etanol 3 g/kg, PND39–63). En la edad adulta (DPN70–71), se aplicaron los paradigmas de campo abierto y reconocimiento de objetos. Ambos grupos que recibieron alcohol mostraron un aumento del comportamiento asociado a ansiedad. Sin embargo, solo los animales del grupo alcohol mostraron déficits de memoria, lo que sugiere que el estrés previo protege frente al deterioro cognitivo inducido por el alcohol. El análisis proteómico del hipocampo dorsal reveló que el alcohol alteró 46 proteínas, implicadas principalmente en el citoesqueleto sináptico, el procesamiento de mRNA y la mielinización. En el grupo estrés+alcohol se identificaron 58 proteínas distintas, enriquecidas en procesos relacionados con la traducción y la biosíntesis, con perfiles opuestos a los del grupo alcohol solo. El análisis fosfoproteómico también reveló patrones divergentes de fosforilación, especialmente en proteínas asociadas a sinapsis, tráfico vesicular y guía axonal.

En conjunto, estos resultados indican que el estrés leve previo modula las consecuencias moleculares del alcohol sobre el hipocampo, atenuando su impacto sobre la estructura y función sináptica a través de mecanismos compensatorios que podrían tener un valor neuroprotector.

Referencias:

- Sánchez-Marín, L., Pavón, F. J., Decara, J., Suárez, J., Gavito, A. L., Castilla-Ortega, E., Rodríguez de Fonseca, F., & Serrano, A. (2017). Effects of intermittent alcohol exposure on emotion and cognition: A potential role for the endogenous cannabinoid system and neuroinflammation. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 11, 15. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00015>
- Sánchez-Marín, L., Gavito, A. L., Decara, J., Pastor, A., Castilla-Ortega, E., Suárez, J., Rodríguez de Fonseca, F., & Serrano, A. (2020). Impact of intermittent voluntary ethanol consumption during adolescence on the expression of endocannabinoid system and neuroinflammatory mediators. *European Neuropsychopharmacology*, 33, 126–138. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2020.01.012>
- Sánchez-Marín, L., Flores-López, M., Gavito, A. L., Suárez, J., Pavón-Morón, F. J., Rodríguez de Fonseca, F., & Serrano, A. (2022). Repeated restraint stress and binge alcohol during adolescence induce long-term effects on anxiety-like behavior and the expression of the endocannabinoid system in male rats. *Biomedicine*, 10(3), Article 593. <https://doi.org/10.3390/biomedicine10030593>
- Verheul-Campos, J., Sánchez-Marín, L., López, Y. & Rodríguez de Fonseca, F., (in press). Prior restraint stress counteracts memory deficits associated with adolescent alcohol exposure by targeting both the hippocampal endocannabinoid and glutamatergic systems. *Drug and Alcohol Dependence*.

Financiación y agradecimientos: El presente estudio ha sido financiado por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) a través de los proyectos PI20/01399, PI22/00427 y PI22/01833, RICORS RIAPAD (RD21/0009/0003), ISCIII-FORTALECE (FORT23/00013), y cofinanciado por la Unión Europea. Fondos adicionales provienen del Plan Nacional sobre Drogas, proyecto PNSD 2022/020.

La inmunoterapia sublingual con Pru p 3 induce cambios en la metilación del ADN hacia la tolerancia en células dendríticas de pacientes con alergia a LTP

María del Carmen Martín-Astorga^{1,2}, Rafael Nuñez¹, Anyith Cruz-Amaya^{1,2}, Clara Lebrón-Martín^{1,2}, Ana Molina¹, Natalia Pérez-Sánchez³, Francisca Gómez³, Marta Andugar³, María José Torres^{1,2,3}, Cristobalina Mayorga^{1,3}.

¹Grupo de Enfermedades Alérgicas a Fármacos y Alérgenos, Instituto de Investigación Biomédica de Málaga y Plataforma en Nanomedicina (IBIMA-Plataforma BIONAND), Málaga, España. ²Universidad de Málaga (UMA), España. ³UGC de Alergología, Hospital Regional Universitario de Málaga, España. Email: mcmartin@uma.es

Introducción: La alergia alimentaria es un estado patológico del sistema inmunitario desencadenado por la ingesta de un antígeno proteico alimentario. Pru p 3, una proteína de transferencia lipídica (LTP), es el principal alérgeno del melocotón y el principal sensibilizador en la población mediterránea y responsable de reacciones alérgicas cuyos síntomas clínicos pueden ser graves (anafilaxia) hasta en un 50% de los casos. La inmunoterapia específica de alérgeno (ITA) y, en particular, la inmunoterapia sublingual con extracto enriquecido de Pru p 3 (Pru p 3-SLIT) en la alergia alimentaria por sensibilización a LTP es la única opción por el momento para inducir tolerancia [Palomares F et al. 2018]. Esta tolerancia puede estar asociada a cambios epigenéticos específicos que regulan la respuesta inmunológica [Núñez R et al. 2022]. Nuestro objetivo fue investigar dichos cambios en la metilación del ADN en células importantes en dicha respuesta, como son las células dendríticas de pacientes con alergia a LTPs (PA-LTP) después de una exitosa ITA.

Métodos: Se reclutaron 11 PA-LTP, donde 6 fueron tratados diariamente con Pru p 3-SLIT (grupo "activo") y 5 con placebo (grupo "placebo"). Se tomaron muestras de sangre al inicio (T1) y al cabo de un año de tratamiento (T2). Se llevó a cabo una secuenciación por bisulfito de todo el genoma para evaluar los cambios de metilación de la citosina en el ADN de las células dendríticas de PA-LTP. Para determinar qué cambios de metilación de podrían estar asociados con el desarrollo de tolerancia, se comparó a los pacientes tolerantes de que recibieron Pru p 3-SLIT con los tratados con placebo.

Resultados: Tras excluir las regiones metiladas diferencialmente (DMR) asociadas al placebo, se hallaron 2058 DMR solapadas con 1883 promotores génicos en pacientes tratados con Pru p 3-SLIT. La lista de genes afectados incluía genes relacionados con la inmunidad como HLA-DQA1, HLA-DQB1, FOXP1, MTOR, IL2, IL15 y TLR7, IL15 y TLR7, implicados en la activación de células T a través del contacto con antígenos unidos al complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), la regulación de la adhesión célula-célula de leucocitos, la señalización de receptores Toll-like de superficie celular, la respuesta al factor de necrosis tumoral (TNF) y la regulación de la producción de citoquinas implicadas en la respuesta inflamatoria.

Conclusiones: La Pru p 3-SLIT induce cambios en la metilación del ADN que pueden regular diferentes vías relacionadas con el papel de las células dendríticas en la tolerancia inmune. Estas marcas epigenéticas representan prometedores biomarcadores candidatos para identificar el éxito de la SLIT.

Referencias:

Núñez R et al. *Front. Immunol.* 2022. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1094172>.

Palomares F et al. *Mol Nutr Food Res.* 2018. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201700669>

Financiación: Instituto de Salud "Carlos III" (ISCIII) del Ministerio de Ciencia e Innovación ("PI17/01318", "PI18/00288", "PI21/00346", "PI21/01391" y "AC18/00031"), cofinanciado por la Unión Europea; RETICS ARADyAL (RD16/0006/0001), Ayudas PFIS (FI22/00106, FI22/00199 y FI23/00027), Sara Borrell (CD20/00085 y CD21/00034); Horizon Europe Marie Skłodowska-Curie Actions (MSCA) Postdoctoral Fellowships 2022 (HORIZON-MSCA-2022-PF-01-01 MSCA); RICORS (RD21/0002/0008); Consejería de Salud de la Junta de Andalucía (PE-0039-2018), y Programa Nicolas Monardes (RC0004-2021).

Genome-Wide Association Study (GWAS) to find out genes involved in drought tolerance in strawberry.

Mario Ruiz-Velázquez¹, Cristina Castillejo Mangado¹, José F. Sánchez-Sevilla^{1,2}, Elsa Martínez Ferri^{1,2}, María-Teresa Ariza Fernández¹, Iraida Amaya^{2,3}

¹ Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA), Centro IFAPA de Málaga, 29140 Málaga. ² Unidad Asociada de I+D+i IFAPA-CSIC Biotecnología y Mejora en Fresa, Málaga. ³ Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea "La Mayora" (IHSM-UMA-CSIC), Bulevar Louis Pasteur 29, 29010 Málaga.
E-mail: mario.ruiz@juntadeandalucia.es

Cultivated strawberry (*Fragaria × ananassa*) is the most important berry crop worldwide. However, current drought and water scarcity may compromise the viability of this crop in the near future. In this study, we performed GWAS on a selection of 138 diverse accessions from the *Fragaria* germplasm collection at IFAPA Málaga. We genotyped the strawberry collection using 40,808 high-quality SNPs. Then, a total of 45 traits related to WUE, agronomic and physiological were phenotyped during two consecutive seasons under two different irrigation regimes, well-watered and water limited respectively. The accessions were clearly separated between the well irrigated and the reduced water season, indicating that the applied water reduction had an impact on the phenotypic data. Also, we found a negative correlation between stomatal density and water use efficiency in the well-watered season, in agreement with Bertolino et al., 2019. So, we conducted an RNA-seq assay in leaves of two pools of accessions that differed significantly in stomatal density and WUE and identified genes differentially between them. GWAS was performed using different models from the R package 'GAPIT3' (Wang et al., 2021) resulting in the detection of 43 significant SNPs in 16 of the 45 evaluated traits joining both seasons. These SNPs were associated with CO₂ assimilation rate, fluorescence quantum yield, fruit weight, harvest index, yield efficiency, firmness, brix, stomatal density, SPAD, plant projected area, and leaf and root biomass. Finally, we have defined Linkage Disequilibrium intervals for those significant markers and searched for candidate genes.

References:

- Bertolino L., R. Caine, J. Gray. Impact of stomatal density and morphology on water use efficiency in a changing world. *Frontiers in Plant Science*, 10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00225>
- Wang, J., Zhang, Z. (2021). GAPIT Version 3: Boosting Power and Accuracy for Genomic Association and Prediction. *Genomics, Proteomics and Bioinformatics*, 19, 4. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2021.08.005>

Funding: This work is supported by grant PID2022-138290OR-I00/MCIN/AEI/10.13039/501100011033/FEDER UE. M. Ruiz-Velázquez acknowledges grant PRE2021-099767 financed by MICIU/AEI 10.13039/501100011033 and for the FSE+.

Insights into plant-geminivirus interaction: studying the role of RLK-LRR II

Marta A. Rey, Tábata Rosas-Díaz, Araceli G. Castillo

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea La Mayora, Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM, UMA-CSIC). Málaga, Spain.

E-mail: m_alcala_rey@uma.es

Geminiviruses are detrimental to agricultural production and cause huge economic losses, ranking among the world's most devastating plant pathogens (Rybicki, 2015). Therefore, elucidating the molecular mechanisms underlying the interaction between the virus and the plant defenses is crucial. Traditionally RNA interference (RNAi) has been proposed as the main antiviral defense mechanism; nonetheless, the possibility of viral-related proteins being recognized by plant innate immunity cannot be ruled out. Plant innate immunity comprises two tiers: pattern-triggered immunity (PTI) and effector-triggered immunity (ETI). PTI relies on the recognition of elicitors by cell surface receptors and the subsequent signaling cascade. PTI receptors can be classified into receptor-like kinases (RLKs) or receptor-like proteins (RLPs). Upon the recognition of the elicitor, RLKs or RLPs heterodimerize with another RLK that acts as a co-receptor. This association triggers the phosphorylation of the kinase domains and forward the signal to the intracellular space (DeFalco & Zipfel, 2021). Previous studies have shown that members of the RLK-LRR II family, known to act as co-receptors, in the viral infection. For example, the mutation of the receptor BAK1 (BRI1-Associated Kinase 1) in *Arabidopsis thaliana* results in an increased susceptibility to RNA viruses (Kørner *et al.*, 2013). Based on this evidence, we hypothesize that RLK proteins, particularly those belonging to the LRR II family (also known as co-receptors), may be involved in the perception and response to geminivirus. Here, we present the workflow followed to validate our hypothesis.

References:

- DeFalco, T. A., & Zipfel, C. (2021). Molecular mechanisms of early plant pattern-triggered immune signaling. *Molecular cell*, 81(17), 3449–3467. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2021.07.029>
- Kørner, C. J., Klauser, D., Niehl, A., Domínguez-Ferreras, A., Chinchilla, D., Boller, T., Heinlein, M., & Hann, D. R. (2013). The immunity regulator BAK1 contributes to resistance against diverse RNA viruses. *Molecular plant-microbe interactions: MPMI*, 26(11), 1271–1280. <https://doi.org/10.1094/MPMI-06-13-0179-R>
- Rybicki E. P. (2015). A Top Ten list for economically important plant viruses. *Archives of virology*, 160(1), 17–20. <https://doi.org/10.1007/s00705-014-2295-9>

Acknowledgements and funding: The authors would like to Adela Zumaquero, and Javier Rueda and contributions from all members of the GeminiTeamIHSM. This work is supported by the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (grant PID2022-139376OB-C31 A.G.C). and by the Spanish Ministerio de Ciencia e Innovación (fellowship number FPI PRE2022-000504 M.A.R.).

Characterization of FaRPL, a Key Regulator of Strawberry Fruit Ripening Dependent on KNOX Interaction

María González-Blanco, Victoriano Meco, Carmen Martín Pizarro*, David Posé*
Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea (IHSM)-UMA-CSIC, Málaga, Spain,
Institución

*cmmartin@uma.es, dpose@uma.es

Strawberry (*Fragaria × ananassa*) is one of the most important fruit crops worldwide. Our research group focuses on investigating the molecular mechanisms underlying strawberry fruit development and ripening, with a focus on identifying and characterizing transcription factors (TFs) involved in these processes and elucidating their regulatory roles (Martín Pizarro *et al.* 2021). Among the candidate TFs identified, we selected a BLH/BELL (BEL1-like Homeodomain) TF whose expression increases during ripening, peaking at the turning stage. In this study, we functionally characterized this TF, which we named RIPENINGLESS (FaRPL).

Stable lines silencing *FaRPL* by RNAi in *F. × ananassa* (cv Camarosa) resulted in a pronounced delay in the ripening process, which was almost completely arrested. Additionally, RNA-seq analysis of *FaRPL*-RNAi fruits revealed that genes involved in the biosynthesis and catabolism of ABA, the main phytohormone regulating strawberry ripening (², were significantly down- and up-regulated, respectively, consistent with a significant reduction in ABA levels. Furthermore, *FaRPL*-RNAi lines exhibited alterations in the expression of genes involved in the phenylpropanoid pathway, which produces ripening-associated compounds such as anthocyanins (responsible for the typical red color of ripe strawberry fruits) and lignins. Further analysis revealed that FaRPL's localization to the nucleus depends on its interaction with TFs of the KNOX family. This heterodimerization appears to be essential for FaRPL nuclear import, suggesting that its regulatory activity is tightly linked to the formation of protein complexes with KNOX partners. These findings revealed a mechanistic layer of control for FaRPL function in fruit ripening mediated by protein-protein interactions.

As next steps, we will perform FRET-FLIM and Co-Immunoprecipitation (CoIP) assays to further validate this interaction and deepen our understanding of the mechanistic role of FaRPL-KNOX complexes in strawberry fruit ripening.

References:

- Martín-Pizarro C, José G Vallarino, Sonia Osorio, Victoriano Meco, Catharina Merchante, Irida Amaya, Miguel A Botella, Victoriano Valpuesta, David Posé, *The Plant Cell*, Volume 33, Issue 5, May 2021, Pages 1574–1593, <https://doi.org/10.1093/plcell/koab070>
Perotti MF, David Posé, Carmen Martín-Pizarro, *Journal of Experimental Botany*, Volume 74, Issue 20, 31 October 2023, Pages 6237–6253, <https://doi.org/10.1093/jxb/erad271>

Acknowledgments and funding: This work was supported by the following grant: ERC-2014-StG 638134 (European Research Council), PID2021-123677OB-I00 (Spanish Ministry of Science and Innovation), UMA20-FEDERJA-093 (Junta de Andalucía), and B1-2022_25 (Plan Propio - Universidad de Málaga).

Sexual differences in stress-responsive behavior and resilience of adult mice exposed to maternal separation during infancy.

Jose Muñoz-Martin^{1,2}, Patricia Chaves-Peña¹, Maria Inmaculada Infantes-Lopez^{1,2}, Emma Zambrana-Infantes³, Victor Martin-Aguilar³, Cristina Ramirez³, Alejandro Zea-Doña¹, Carmen Pedraza^{2,3}, Margarita Perez-Martin^{1,2}

¹Departamento de Biología Celular, Genética y Fisiología. Laboratorio de Neurobiología del estrés. Universidad de Málaga. ²Instituto de Investigación Biomédica de Málaga y Plataforma en Nanomedicina-IBIMA Plataforma Bionand. ³Departamento de Psicobiología y Metodología de las Ciencias del Comportamiento, Universidad de Málaga.
E-mail: jmunozma@uma.es ; marper@uma.es

Humans who experience adversities like neglect or maltreatment during childhood are twice as likely to develop a stress-related disorder like anxiety and depression later in adulthood. In rodents, maternal separation is an early-life adversity model that can mimic the long-term consequences in brain and behavior of people that suffered early adversities. This study aimed to investigate sex-specific responses to adult stress in mice exposed to maternal separation as an early life adversity.

Female and male C57BL/6J mice underwent 3-hour daily maternal separation (MS) for 21 consecutive days. At day 60, they were exposed to a single 2-hour restriction stress (RS) and assessed 24 hours later through a 3-day behavioral test protocol: Nest Building (motivation), Open Field and Forced Swimming Tests (anxiety and depression). The experimental groups included Control, RS, MS, and MS+RS.

Stress responses differed between sexes. RS males performed better in the Nest Building Test, however this was only true for MS+RS females. In the Open Field Test, RS males spent less time in the center, while MS females showed increased movement velocity. These variables were unaltered in the MS+RS groups for both sexes which might indicate a buffering effect in behavior of either RS/MS in males and females, respectively. However, in the Forced Swimming Test, only MS+RS females but not males showed increased swimming time that was not observed in the MS-only group indicating a female sex-specific resilience mechanism. In conclusion, these sex-specific behavioral responses to stress provide insights into the sexual susceptibility to stress-related disorders like anxiety and depression.

Funding: PID2020-117463RB-I00, PID2023-151537OB-I00, funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033, P20-00460, UMA-FEDERJA-112 and FPU21/01318. University of Málaga

Exploring the relevance of extracellular vesicles in geminiviral infection

Pablo Morales-Martínez¹, Pepe Cana-Quijada¹, Benjamin L Koch², Lucía M Borniego², Meenu Singla-Rastogi², Rosa Lozano-Durán³, Roger W Innes², Eduardo R Bejarano¹, Araceli G Castillo¹

¹IHSM - Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea - La Mayora. Málaga. ²Department of Biology, Indiana University. Bloomington, IN. ³Department of Plant Biochemistry - Center for Plant Molecular Biology (ZMBP). Tübingen.

E-mail: pablomoralessmar@uma.es

Geminiviruses constitute the main family of DNA viruses in plants worldwide and pose a severe threat to agronomically relevant crops such as tomato in warm regions. These viruses heavily rely on host cell machinery and co-opt multiple biological pathways to complete all the processes required for infection, such as viral replication or movement. While geminiviruses are known to move from cell to cell through plasmodesmata, we lack a clear understanding of how these viruses spread systemically in the plant. Our group has recently detected, amplified, and sequenced viral DNA sequences present in the apoplast of infected plants. This suggests that geminiviruses might be transported long distances using an extracellular route.

We hypothesize that extracellular transport of geminiviruses may be mediated by extracellular vesicles (EVs), which are membrane-bound structures secreted to the extracellular space to potentially mediate several plant-pathogen interactions such as cross-kingdom RNA interference or the delivery of stress response proteins (Borniego and Innes 2023; Rutter and Innes 2028). In animals, EVs facilitate viral transmission both within the host and even across species though in plants, viral transmission inside EVs has only been observed for a single species of RNA virus, Turnip mosaic virus (TuMV; Mocahed *et al*, 2019).

In this work, we will present data that shows the presence of complete viral genomes and apoplastic viral particles associated with EVs through DNA amplification, proteomics, and electron microscopy.

References:

Borniego ML, Innes RW. Extracellular RNA: mechanisms of secretion and potential functions. *J Exp Bot*. 2023 Apr 9;74(7):2389-2404. <https://doi.org/10.1093/jxb/erac512>.

Mocahed N, Cabanillas DG, Wan J, Vali H, Laliberté JF, Zheng H. Turnip Mosaic Virus Components Are Released into the Extracellular Space by Vesicles in Infected Leaves. *Plant Physiol*. 2019 Jul;180(3):1375-1388. <https://doi.org/10.1104/pp.19.00381>.

Rutter BD, Innes RW. Extracellular vesicles as key mediators of plant-microbe interactions. *Curr Opin Plant Biol*. 2018 Aug;44:16-22. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2018.01.008>.

Funding & acknowledgements: This work is supported by the Spanish Ministerio de Economía y Competitividad (grant PID2022-139376OB-C31 to E.R.B and A.G.C). and by the Spanish Ministerio de Universidades (fellowship number FPU20/0375 to P.M.M.). We thank Adela Zumaquero, Victoria Motos and Javier Rueda and contributions from all members of the GeminiTeamIHSM.

Deciphering the role of *FaARF6* in the regulation of strawberry fruit growth and ripening

Raquel Muñoz-de Frutos^{1†}, Mario Ruiz-Velázquez^{1†}, José F. Sánchez-Sevilla^{1,2},
Cristina Castillejo^{1*}, Iraida Amaya^{1,2*}

¹Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA), Centro IFAPA de
Málaga, Cortijo de la Cruz s/n, 29140, Málaga²

Unidad Asociada de I+D+i IFAPA-CSIC Biotecnología y Mejora en Fresa, Málaga.

†These authors contributed equally to this work. *co-corresponding authors.

E-mail: Raquel.munoz.frutos@juntadeandalucia.es

Cultivated Strawberry (*Fragaria* × *annanasa*) is the most popular berry crop worldwide. Like many fruits in the *Rosaceae* family, its production faces significant agronomic challenges, coupled with the need to improve fruit quality while maintaining high yields and acceptable fruit size. Previous association studies in our group detected SNPs linked with several agronomic and fruit quality traits, including fruit weight (FW)¹. Two of these associations for FW in chromosomes 3C and 3D laid within homoelogenous copies of Auxin Response Factor 6 (ARF6). ARF are the main players of the transcriptional response to auxin, regulating virtually every aspect of plant growth and development.

This study aims to understand the role of *FaARF6* in strawberry fruit development and ripening, and whether it regulates fruit size and weight. We detected lower transcript levels of the two homoelogs *FaARF6*(3C) (FxaC_11g02060) and *FaARF6*(3D) (FxaC_12g45100) in cultivars with higher FW, suggesting that *FaARF6* might repress fruit growth in strawberry. We have monitored fruit growth and ripening in selected accessions with either big or small fruits, observing different growth and ripening rates among them. Expression of *FaARF6* and auxin-response marker genes will be evaluated at four representative developmental stages, and the function of *FaARF6* further investigated via CRISPR/Cas9 inactivation, and overexpression in transgenic strawberry plants.

References:

Muñoz P, Roldán-Guerra FJ, Verma S, Ruiz-Velázquez M, Torreblanca R, Oiza N, Castillejo C, Sánchez-Sevilla JF, Amaya I. Genome-wide association studies in a diverse strawberry collection unveil loci controlling agronomic and fruit quality traits. *Plant Genome*. 2024 Dec;17(4):e20509. <https://doi.org/10.1002/tpg2.20509>

Funding & acknowledgements: This work is financed for PID2022-138290OR-I00 / MCIN / AEI /10.13039/501100011033 / FEDER, UE) and the European project H2020 BreedingValue (No 101000747). RMdF and MRV acknowledge the predoctoral FPI contracts PID2022-138290OR-I00 and PRE2021-099767 from AEI co-financed by the FSE. IFAPA *Fragaria* collection is financed by IFAPA Project PR.CRF.CRF202200.002 from Fondo Europeo Agrícola para el Desarrollo Rural.

Functional characterization of NTMC2T5 proteins in the development of chloroplasts in *Nicotiana benthamiana*

Oliver Cuevas¹, Carolina Huércano¹, Victoria Sánchez-Vera¹ & Noemí Ruiz-López¹

¹ Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora” (IHSM-UMA-CSIC)

E-mail: olivercuevas@uma.es

Membrane contact sites (MCS) are regions where organelle membranes closely interact, facilitating lipid transfer via specific proteins and lipids, and playing key roles in plant lipid metabolism (Jain & Holthuis, 2017; Voeltz et al., 2024).

We investigated NTMC2T5 proteins, which localize to the outer chloroplast envelope and associate with the endoplasmic reticulum (ER) at MCS via SMP domains involved in lipid transfer. To assess their function, we generated *Nicotiana benthamiana* *Nbntmc2t5* mutants, which showed cotyledon yellowing post-germination. Confocal and electron microscopy revealed defects in plastid development under both light and dark conditions.

Our findings show that loss of NbNTMC2T5 disrupts plastid biogenesis from the proplastid stage, impairing the transition to mature chloroplasts. This highlights the essential role of MCS-mediated lipid transfer in early plastid biogenesis.

References:

Jain, A., & Holthuis, J. C. M. (2017). Membrane contact sites, ancient and central hubs of cellular lipid logistics. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1864(9), 1450–1458. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2017.05.017>

Voeltz, G. K., Sawyer, E. M., Hajnóczky, G., & Prinz, W. A. (2024). Making the connection: How membrane contact sites have changed our view of organelle biology. *Cell*, 187(2), 257–270. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.11.040>

Agradecimientos y financiación:

Este trabajo ha sido financiado por la ayuda PID2021-127649OB-I00 (MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y la Unión Europea) y una ayuda para la Formación del Profesorado Universitario (FPU23/00493) del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades.

Cultivar-by-environment interactions shape strawberry fruit quality: a multi-omics approach across European climates

Patricia Pacheco-Ruiz¹, Elisa Senger², Delphine M Pott¹, Freya MR Ziegler^{2,3}, Agnieszka Masny⁴, Anita Sønsteby⁵, Erika Krüger⁶, Philippe Chartier⁷, Daniela Mott⁸, Aurélie Petit⁷, Gianluca Savini⁸, Björn Usadel^{2,3}, Sonia Osorio¹, José G Vallarino^{1*}

¹Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea “La Mayora”. Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), 29010 Málaga, Spain. ²Forschungszentrum Jülich, CEPLAS, BioSC, Institute of Bio- and Geosciences, IBG-4, Wilhelm-Johnen-Strasse, 52428 Jülich, Germany. ³Institute for Biological Data Science, Heinrich-Heine-University Düsseldorf, Universitätsstr. 1, 40225 Düsseldorf, Germany. ⁴INHORT, Institute Horticulture, Ul. Konstytucji 3 Maja 13, 96-100 Skierniewice, Poland. ⁵NIBIO, Norwegian Institute of Bioeconomy, Research Pb. 115, NO-1431 As, Norway. ⁶HGU, Institute of Pomology, Hochschule Geisenheim University, 65366 Geisenheim, Germany. ⁷INVENIO, Maison Jeannette, 24140 Douville, France. ⁸SO, Sant’Orsola Società Cooperativa Agricola, Via Lagorai, 127, 38057 Pergine Valsugana, Italy.

*E-Mail: vallarino@uma.es

The cultivated strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) holds significant economic and nutritional value in Europe, though flavour inconsistency remains a breeding challenge. In this context, four genetically distinct cultivars—Clery, Frida, Gariguette, and Sonata—were grown across five diverse European sites. We assessed phenological development, metabolomic and transcriptomic profiles, employing both open-field and controlled cultivation systems. Fruit development correlated with temperature and light exposure; warm climates like Poland accelerated ripening, while colder regions such as Germany caused delays. Metabolomic data showed primary metabolites responded strongly to environmental variation, whereas VOCs were mainly genotype-dependent. Transcriptomic analysis linked specific gene expressions to flavour compound biosynthesis. Identified genes offer promising targets for marker-assisted selection, supporting stable flavour enhancement through climate-resilient breeding strategies.

Funding & acknowledgements: This work was supported through funding by the European Union’s Horizon 2020 Research and Innovation Programme under Grant Agreement Number 679303. In addition, we acknowledge partial funding by the European Union’s H2020 Programme (BreedingValue; grant number 101000747), P21_00315 (Junta de Andalucía), and Ramón y Cajal programme (RYC2021-034936-1, Ministerio de Ciencias e Innovación). Finally, this study is within the frame of the European project PID2021-128527OB-I00.

