

BIOLOGÍA QUÍMICA PARA MEJORAR LA TOLERANCIA DE LAS PLANTAS A LA SEQUÍA

CHEMICAL BIOLOGY TO IMPROVE PLANT TOLERANCE TO DROUGHT

por JORGE LOZANO-JUSTE

INSTITUTO DE BIOLOGIA MOLECULAR Y CELULAR DE PLANTAS, UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA, CSIC.

Palabras clave: sequía, plantas, ácido abscísico (ABA), estructura, compuestos químicos, diseño.

Keywords: drought, plants, abscisic acid (ABA), structure, chemical compounds, design.

Resumen: Según la Organización para la Agricultura de las Naciones Unidas (FAO), la sequía es el principal factor causante de la pérdida de producción agrícola. De hecho, más del 34 % de las pérdidas de producción agrícola y ganadera se deben a la sequía, con un coste global para el sector de 37.000 millones de dólares. El ácido abscísico (ABA), es una hormona vegetal clave para coordinar la activación de las respuestas adaptativas que convergen en la protección de las plantas frente al estrés. Para ejercer su función, el ABA se une a sus receptores PYR/PYL, y produce una reprogramación del crecimiento de las plantas que les permite aumentar su eficiencia en el uso del agua para sobrevivir a periodos de sequía. En este trabajo, hemos usado una aproximación de química biológica para desarrollar compuestos químicos que incrementen la resistencia de las plantas a la sequía usando los receptores del ABA como proteínas diana. Tras un cribado de millones de moléculas químicas, hemos encontrado un compuesto capaz de activar los receptores de ABA. Sin embargo, la actividad de esta molécula es muy baja. Guiados por estudios estructurales, hemos diseñado un receptor a medida (CsPYL1^{5m}) optimizado para ser activado por este nuevo compuesto. En un segundo paso, hemos sintetizado una versión mejorada del compuesto, denominado iSB09 que activa muy eficientemente el receptor que hemos diseñado. Aplicando el compuesto iSB09 sobre plantas transgénicas que expresan el receptor optimizado (CsPYL1^{5m}), somos capaces de incrementar de manera notable la tolerancia a la sequía de estas plantas. La aplicación mediante espray foliar de iSB09 permite a las plantas soportar largos periodos sin riego resultando en una tecnología que ofrece soluciones al problema de la sequía en la agricultura.

Abstract: According to the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), drought is the main factor causing agricultural production losses. In fact, more than 34 % of crop and livestock production losses are due to drought, with a global cost to the sector of 37 billion dollars. Abscisic acid (ABA) is a key plant hormone that coordinates the activation of adaptive responses aimed at protecting plants from stress. To exert its function, ABA binds to its PYR/PYL receptors, triggering a reprogramming of plant growth that enhances water-use efficiency, allowing survival during periods of drought. In this work, we used a chemical biology approach to develop chemical compounds that increase plant drought resistance by targeting ABA receptors. After screening millions of chemical molecules, we identified a compound capable of activating ABA receptors. However, its activity was very low. Guided by structural studies, we designed a custom receptor (CsPYL1^{5m}) optimized to be activated by this new compound. In a second step, we synthesized an improved version of the compound, named iSB09, which efficiently activates the engineered receptor. Applying iSB09 to transgenic plants expressing the optimized receptor (CsPYL1^{5m}) significantly increased their drought tolerance. Foliar spray application of iSB09 allows plants to withstand extended periods without irrigation, providing a promising technology to address drought-related challenges in agriculture.

La investigación sobre la respuesta al estrés en plantas es de gran relevancia debido a su importancia en la agricultura. En los últimos años, y debido al cambio climático, cada vez más investigadores y más recursos, tanto privados como públicos, se dedican a la investigación de la respuesta al estrés en plantas con la finalidad de encontrar estrategias para mejorar la productividad de los cultivos en situaciones de estrés, que es necesaria para alimentar a una población en continuo crecimiento. Las plantas poseen una amplia gama de estrategias fisiológicas y moleculares para enfrentar el estrés. La coordinación de estas respuestas es esencial para garantizar la superviven-

cia de las plantas en ambientes desfavorables. Entre todos los estreses, según la FAO, la sequía es el principal factor determinante de la pérdida de producción agrícola. De hecho, más del 34 % de las pérdidas de producción agrícola y ganadera se deben a la sequía, con un coste global para el sector de 37.000 millones de dólares. Dentro de las moléculas señalizadoras que controlan las respuestas a estreses abióticos, como la sequía, el ácido abscísico (ABA) es una molécula clave para coordinar la activación de respuestas adaptativas que convergen en la protección de las plantas frente al estrés.

Para regular estas respuestas, el ABA forma parte

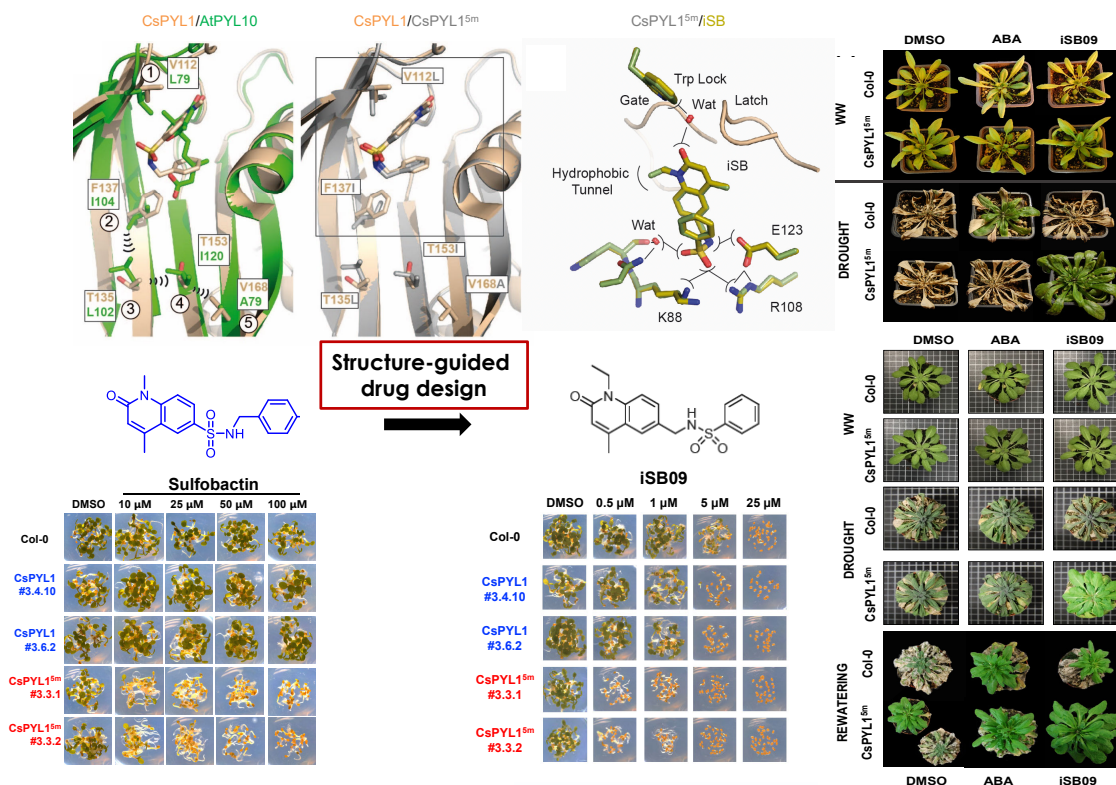
de una ruta de señalización cuyos componentes han sido descritos en detalle. El descubrimiento de los receptores de ABA en 2009 supuso un hito científico muy relevante. Tras su descubrimiento, numerosos laboratorios académicos y empresas biotecnológicas han invertido muchos recursos en explotar los receptores de ABA para la obtención de soluciones que mejoren la productividad de los cultivos bajo condiciones de estrés. Debido a que la activación constitutiva de los receptores de ABA en plantas transgénicas, conlleva muy frecuentemente efectos no deseados, el desarrollo de moléculas químicas sintéticas que activen los receptores de ABA (moléculas agonistas) ha ganado mucha relevancia ya que se ha probado como una estrategia muy eficiente y conveniente para la activación de la respuesta a estrés de manera potente y transitoria. La aplicación exógena de estos agonistas de los receptores de ABA, activa la ruta de señalización y protege las plantas de cosecha frente a la sequía, lo que ha atraído mucho interés debido a su aplicación biotecnológica.

En nuestro trabajo, hemos llevado a cabo un rastreo de moléculas químicas para encontrar candidatos que activen los receptores de ABA. En concreto, hemos usado la química computacional para cribar millones de compuestos mediante simulaciones estructurales de interacción proteína-ligando (*docking*). Este esfuerzo resultó en la identificación de una molécula química que denominamos sulfobactina (SB) capaz de activar algunos receptores de ABA. Sin embargo, tras realizar diferentes ensayos pudimos comprobar que la actividad del compuesto era muy baja. Para incrementar la potencia de SB resolvimos su estructura en complejo con el receptor mediante la cristalografía de rayos X e identificamos diferentes aminoácidos importantes para su actividad. Usando esa información estructural, pudimos diseñar varios cambios en el receptor que incrementarían su afinidad por SB. Tras comprobar experimentalmente mediante ensayos *in vitro* e *in vivo* que estos cambios habían resultado certeros, contábamos con un receptor a medida (CsPYL1^{5m}) que une SB con una buena afinidad. Para incrementar más aún la potencia de SB y tratar de desarrollar una estrategia que pudiera

funcionar eficientemente en campo, resolvimos la estructura de SB en complejo con el receptor diseñado CsPYL1^{5m}. Esta nueva estructura nos permitió guiar el diseño de una serie de cambios en la estructura química de SB para incrementar su potencia. Sintetizamos dichos compuestos mejorados y comprobamos que uno de ellos, iSB09, es mucho más potente que SB y puede activar los receptores de ABA de una manera mucho más eficiente. Plantas que expresan el receptor CsPYL1^{5m} son capaces de resistir largos periodos de sequía tras ser tratadas con una baja dosis de iSB09. La aplicación de iSB09 en estas plantas, activa los mecanismos de protección frente al estrés incluso mejor que el propio ABA. Consigue un incremento en la eficiencia en el uso del agua de las plantas mediante una reducción de la transpiración. Esto permite que las plantas ralenticen el consumo de agua en situaciones de sequía incrementando notablemente su supervivencia. En este trabajo, a través de aproximaciones estructurales, estudios fisiológicos y moleculares hemos desarrollado una tecnología para incrementar la resistencia de las plantas a la sequía ofreciendo soluciones a este problema global en la agricultura.

Bibliografía

- Cutler SR, et al., 2010. Absciscic acid: emergence of a core signaling network. *Annu Rev Plant Biol.* 61:651-79.
- Dejonghe W, et al., 2018. Small Molecule Probes of ABA Biosynthesis and Signaling. *Plant Cell Physiol.* Aug 1;59(8):1490-1499.
- Helander JD, et al., 2016. Chemical manipulation of plant water use. *Bioorg Med Chem.* Feb 1;24(3):493-500.
- Lozano-Juste J, et al., 2023. Structure-guided engineering of a receptor-agonist pair for inducible activation of the ABA adaptive response to drought. *Sci Adv.* Mar 10;9(10)
- Nuccio ML, et al., 2018. Where are the drought tolerant crops? An assessment of more than two decades of plant biotechnology effort in crop improvement. *Plant Sci.* 273:110-119.



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



CSIC
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Methods for improving abiotic stress resistance. EP21382948.4 21

Figura 1. Estrategia de diseño de ligandos guiado por estructura para la activación inducible de la respuesta a la sequía. Identificación de residuos importantes para la unión de sulfobactina (SB) (arriba izquierda) y detalle de la unión del compuesto iSB09 al receptor diseñado CsPYL1^{5m} (arriba centro). iSB09 tiene una alta bioactividad en plantas que expresan CsPYL1^{5m} (abajo). Tratamiento con iSB09 mejora la tolerancia a la sequía en plantas CsPYL1^{5m} (derecha).