

Pilar Sánchez Testillano

Investigadora Científica
testillano@cib.csic.es



PhD, 1991
Universidad Complutense de Madrid
CNRS, (Villejuif, Francia)
CSHL (NY, USA)
Científico Titular, 1996
Investigador Científico, 2008
Jefe de Grupo CIB, 2012
CIB, CSIC

M^a del Carmen Risueño Almeida

Profesora de Investigación,
Doctor vinculado *Ad Honorem*
risueno@cib.csic.es



PhD, 1967
Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral
Universidad de Marseille-Luminy, CNRS/
INSERM (Villejuif, Francia)
DKFZ (Heidelberg, Alemania)
Científico Titular, 1968
Investigador Científico, 1988
Profesor de Investigación, 2002
Doctor vinculado Ad Honorem, 2012
CIB, CSIC

Otros miembros | Other lab members:

Ivett Bárány
María Teresa Solís González
Héctor Rodríguez Sanz

Ahmed-Abdalla El-Tantawy
Manuel Jesús Soriano Laguna
Vanessa Cano Lázaro

Sandra Santa Rosa
Inés García Vara
Eduardo Berenguer Peinado

<http://www.cib.csic.es/es/grupo.php?idgrupo=33>

Biotecnología del Polen de Plantas Cultivadas

Analizamos la regulación de la embriogénesis de polen inducida por estrés, proceso en que la microspora se reprograma, adquiere totipotencia y origina un embrión y una planta doble-haploide, potente herramienta biotecnológica en mejora vegetal pero de eficiencia limitada en muchas especies agroforestales. La segunda línea del grupo estudia la aplicación de nanopartículas para diagnóstico y tratamiento de fitopatologías.

Totipotencia y reprogramación del polen a embriogénesis inducida por estrés para mejora de especies cultivadas y forestales.

Caracterizamos los factores determinantes de la adquisición de totipotencia celular, reprogramación e inicio de embriogénesis en respuesta a estrés, para su utilización como dianas selectivas en estrategias de optimización del sistema y su aplicación en programas de mejora de plantas cultivadas, agronómicos y medioambientales. Mediante un abordaje multidisciplinar e integrado con técnicas de identificación molecular *in situ*, microscopía correlativa, biología molecular y celular, estu-

diamos diversos procesos con un papel clave en la reprogramación de la microspora: a) balance entre supervivencia y muerte celular, dirigido por PCD y autofagia; b) regulación epigenética operada por metilación del DNA y modificaciones de histonas activadoras y represoras; c) dinámica de fitohormonas (auxinas y su balance con citoquininas); d) remodelación de la pared celular mediada por pectin-metil esterasas y proteínas de arabino-galactanos (AGPs). Empleamos los sistemas modelo de colza y cebada, y evaluamos la extensión y aplicabilidad de los resultados a otras especies cultivadas de interés agrícola (hortofrutícolas), bioenergético o forestal (alcornoque).

Nanopartículas (NPs) para diagnóstico y tratamiento de fitopatologías.

Estudiamos los mecanismos de internalización y transporte de NPs magnéticas, superparamagnéticas y Quantum Dots *in planta* y en patógenos como *Fusarium*, su posible citotoxicidad y potencial de adquisición. Analizamos cómo cambia la dinámica de entrada y movilización de NPs funcionalizadas y unidas a anticuerpos marcadores de patógenos (para diagnóstico) o herbicidas, fertilizantes y pesticidas (como sistemas de liberación controlada para tratamientos). Empleamos diferentes plantas cultivadas como calabaza, guisante, tomate, girasol y trigo, y su infección con *Fusarium*.

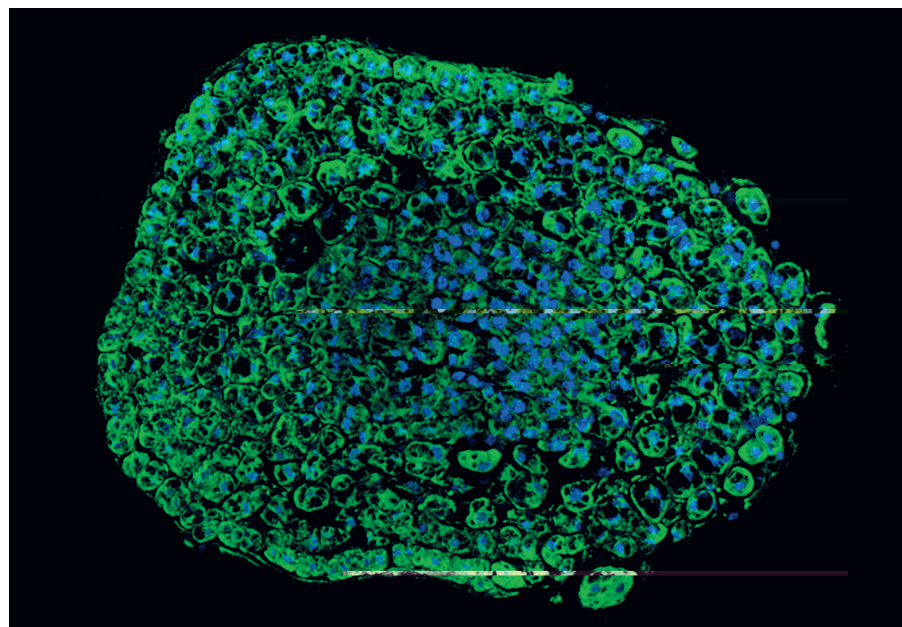


Figura 1 | Figure 1

Expresión *in situ* del gen de la DNA metiltransferasa *BnMET1* en un embrión derivado de polen de *Brassica napus*, colza, mediante hibridación *in situ* fluorescente (FISH) y análisis confocal. Señal de hibridación en verde y núcleos teñidos con DAPI en azul. De: Solís et al. 2012, 63: 6431-6444.

In situ expression of the DNA methyltransferase *BnMET1* in a pollen-derived embryo of *Brassica napus*, rapeseed, by fluorescence *in situ* hybridization (FISH) and confocal analysis. Hybridization signal in green and nuclei, stained by DAPI, in blue. From: Solís et al. 2012, 63: 6431-6444.

Financiación | Funding

- BFU2011-23752 (MINECO)
- PRI-AIBPT-2011-0763 (MINECO)
- CoRI, n. 66444 (Univ. Palermo, Italy)
- COST Action FA0903-HAPRECI (EU)



Pollen Biotechnology of Crop Plants

We analyze the regulation of the stress-induced pollen embryogenesis, process in which the microspore is reprogrammed, acquires totipotency and originates an embryo and a doubled-haploid plant, potent biotechnological tool in plant breeding, but with limited efficiency in many agro-forestry species. The second research line of the group studies the application of nanoparticles for diagnosis and treatment of phytopathologies.

Stress-induced pollen totipotency and reprogramming to embryogenesis for breeding of crops and forestry plants.

We characterize the determinant factors of cell totipotency acquisition, reprogramming and embryogenesis initiation, in response to stress, for their use as selective targets in strategies for optimization of the system and application in breeding programs of crops, agronomic and environmental. By means of a multidisciplinary and integrated approach with techniques of in situ molecular identification, correlative microscopy, molecular and cell biology, we studied the following elements and processes, which have a key role in the pollen reprogramming: a) balance between cell survival and death, operated by PCD and autophagy; b) epigenetic regulation operated by DNA methylation and histone modifications, activators and repressors of transcriptional activity; c) dynamics of phytohormones (auxins and its balance with cytokinins); d) cell wall remodeling mediated by pectin methyl esterase and arabinogalactan proteins (AGPs). We use the model systems of rapeseed and barley, and evaluate the applicability and extension of the results to other species of interest for agriculture (horticultural and fruits), bioenergy or forestry (cork oak).

Nanoparticles (NPs) for diagnosis and treatments in crop protection.

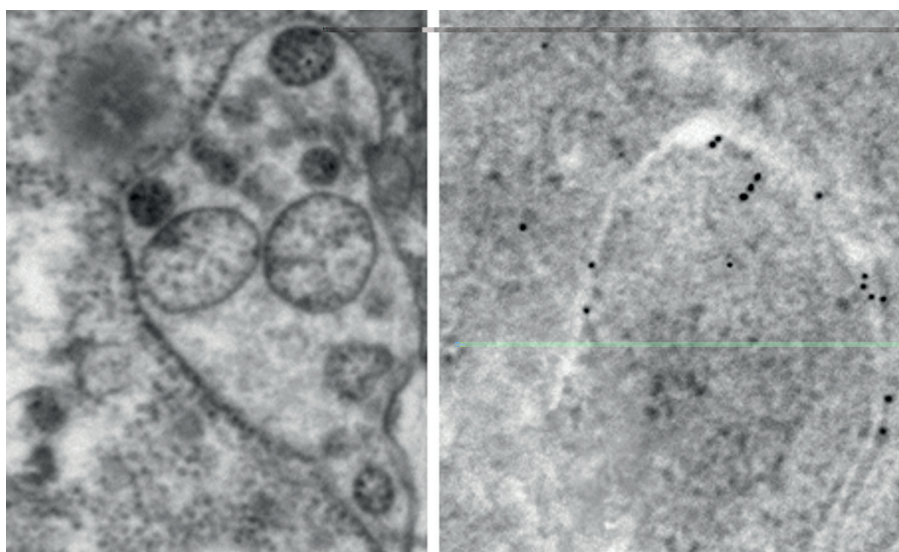


Figura 2 | Figure 2

Autofagosoma (izquierda) y localización de Atg5 (derecha) en estructuras autofágicas mediante inmunomarcado con oro en microscopía electrónica de transmisión, células tapetales durante el desarrollo del polen de *Brassica napus*, colza.

Autophagosome (left) and localization of Atg5 (right) in autophagic structures by immunogold labelling in transmission electron microscopy, tapetal cells during pollen development of *Brassica napus*, rapeseed.

We study the mechanisms of internalization and transport *in planta* and pathogens, as *Fusarium*, of magnetic and superparamagnetic NPs and Quantum Dots, as well as their possible cytotoxicity, and potential uptake. We analyze how the dynamics of NPs entrance and movility changes when NPs

are functionalized with antibodies that label pathogens (for diagnosis) or with herbicides, fertilizers and pesticides (as controlled delivery systems for plant treatments). We use different crops like pumpkin, pea, tomato, sunflower and wheat, and their infection with *Fusarium*.

Publicaciones Seleccionadas Selected Publications

- El-Tantawy AA, Solís MT, Costa ML, Coimbra S, Risueño MC, Testillano PS [2013] *Arabinogalactan protein profiles and distribution patterns during microspore embryogenesis and pollen development in Brassica napus*. **Plant Reproduction** 26, 231-243.
- Testillano PS, Solís MT, Risueño MC [2013] *The 5-methyl-deoxy-cytidine (5mdC) localization to reveal in situ the dynamics of DNA methylation chromatin pattern in a variety of plant organ and tissue cells during development*. **Physiologia Plantarum** 149, 104-113.
- Solís MT, Bárány I, Cano V, Risueño MC, Testillano PS [2014] *Autophagic hallmarks and gene expression accompany programmed cell death in stress-induced pollen embryogenesis and pollen development*. In: *Microscopy for Global Challenges, IMC14*. Ed: P. Hozak. **Czech Academy of Sciences Publishing**. pp. LS-2-O-3517. ISBN 978-80-260-6720-7.
- Rodríguez-Sanz H, Manzanera JA, Solís MT, Gómez-Garay A, Pintos B, Risueño MC, Testillano PS [2014] *Early markers are present in both embryogenesis pathways from microspores and immature zygotic embryos in cork oak, Quercus suber L*. **BMC Plant Biology** 14, 224.
- Pereira AM, Masiero S, Nobre MS, Costa ML, Solís MT, Testillano PS, Sprunck S, Coimbra S [2014] *Differential expression patterns of Arabinogalactan Proteins in Arabidopsis thaliana reproductive tissues*. **Journal of Experimental Botany** 65, 5459-5471.
- Rodríguez-Sanz H, Moreno-Romero J, Solís MT, Köhler C, Risueño MC, Testillano PS [2014] *Changes in histone methylation and acetylation during microspore reprogramming to embryogenesis occur concomitantly with BnHKMT and BnHAT expression and are associated with cell totipotency, proliferation and differentiation*. **Cytogenet Genome Res.** 143, 209-218.
- El-Tantawy AA, Solís MT, Risueño MC, Testillano PS [2014] *Changes in DNA methylation levels and nuclear distribution patterns after microspore reprogramming to embryogenesis in barley*. **Cytogenet Genome Res.** 143:200-208.
- Rispaill N, De Matteis L, Santos R, Miguel AS, Custardoy L, Testillano PS, Risueño MC, Pérez-De-Luque A, Maycock C, Fevèreiro P, Oliva A, Fernandez-Pacheco R, Ibarra MR, De la Fuente J, Marquina C, Rubiales DO, Prats E [2014] *Quantum dots and superparamagnetic nanoparticles interaction with pathogenic fungi: internalization and toxicity profile*. **ACS Applied Materials & Interfaces** 6, 9100-9110.
- Solís MT, Chakrabarti N, Corredor E, Cortés-Eslava J, Rodríguez-Serrano M, Biggiogera M, Risueño MC, Testillano PS [2014] *Epigenetic changes accompany developmental programmed cell death in tapetum cells*. **Plant Cell and Physiology** 55, 16-29.