

Anexo.

1. Plan de formación.

Durante los últimos 10 años del grupo GGBLS, el equipo de investigación ha supervisado 13 tesis doctorales sobre temas relacionados con el proyecto propuesto. Además, actualmente se están llevando a cabo otras dos tesis doctorales.

Tanto los resultados de nuestro grupo como nuestra relación con empresas de semillas y aceites, con las que tenemos varios contratos de investigación y desarrollo, hacen que el grupo GGBLS sea atractivo para estudiantes con buenos expedientes académicos, que estén más estrechamente relacionados con nuestra temática de investigación. Dado que los miembros del equipo de investigación pertenecen a los programas de doctorado de ambas universidades sevillanas (Universidad de Sevilla y Universidad Pablo de Olavide), más específicamente: "Biología Integrada" y "Biología Molecular, Biomedicina e Investigación Clínica" en la Universidad de Sevilla y "Biotecnología, Ingeniería y Tecnología Química" en la UPO, se abre una gama de opciones para nuestros estudiantes según sus preferencias y formación académica.

Además de los cursos disponibles en ambas universidades, el CSIC ofrece una amplia variedad de cursos en su propio Programa de Cursos de Especialización y Alta Especialización (www.csic.es/cursos-de-postgrado), en el que participa el Instituto de la Grasa, para mejorar y actualizar su formación.

Todo esto, junto con nuestra fuerte relación con las empresas, les permite adquirir la formación científica y técnica que necesitan las empresas industriales. Los proyectos con el apoyo y la participación de empresas permiten a los estudiantes centrarse en las necesidades actuales y en los tipos de soluciones que mejor se adaptan a los problemas prácticos. Esto aumenta la calidad de la educación que el grupo de investigación puede ofrecer, motivándolos a formar nuevos científicos familiarizados con las necesidades de la industria y ayudándolos a adaptar sus programas de investigación para satisfacer mejor estas necesidades.

Por otro lado, mantenemos relaciones regulares con más de 10 grupos de investigación internacionales. Los resultados de estas actividades generan publicaciones conjuntas y el intercambio de investigadores. Nuestros estudiantes de doctorado tienen la oportunidad no solo de realizar dos estancias cortas durante su formación científica, sino también de incorporarse a estos grupos como investigadores postdoctorales después de la presentación de sus tesis.

La difusión de los resultados se realizará en varias etapas; primero, el estudiante participará en reuniones semanales de laboratorio y en series regulares de seminarios en el centro de investigación para aprender de la experiencia y conocimientos del resto del equipo de investigación. Las actividades de difusión científica desempeñan un papel fundamental en esta formación, por lo que el estudiante participará en actividades relacionadas como el Día Internacional de la Mujer y la Niña en la Ciencia (11F), la Semana de la Ciencia, la Noche Europea de los Investigadores, Café con Ciencia, la Ciencia en el Bar, el Día Internacional de la Fascinación por las Plantas, etc. Además, los resultados más relevantes se presentarán en reuniones internacionales, principalmente en las Gordon Research Conferences, la Euro Fed Lipid Conference, el International Symposium of Plant Lipids y el European Symposium on Plant Lipids. Esta estrategia proporcionará a los participantes del grupo no solo la oportunidad de mostrar los resultados, sino también de recibir comentarios de grupos externos al proyecto, lo que

podría mejorar la calidad de nuestro trabajo de investigación futuro. Por otro lado, las publicaciones científicas se publicarán en revistas internacionales como *Planta*, *Phytochemistry*, *Journal of Plant Physiology*, *Food Chemistry*, *Lipids*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *JAOCS* o *Frontiers in Plant Science*. Todos estos resultados serán incluidos por el estudiante en su tesis doctoral. Además de siempre obtener la máxima calificación en sus tesis, nuestros estudiantes son solicitados por los principales grupos internacionales por sus conocimientos y formación técnica.

2. Instalaciones e infraestructura disponibles.

Este proyecto de investigación se llevará a cabo en el Instituto de la Grasa (CSIC). El Instituto de la Grasa y el grupo GGBLS están muy bien equipados con todo el material básico para la investigación general de plantas en laboratorios analíticos, bioquímicos y de biología molecular, incluyendo cámaras frigoríficas, cámaras oscuras, cámaras de germinación y cultivo de plantas, salas de temperatura controlada, sistemas de purificación de agua tipo I y II, campanas de extracción y cabinas de flujo de aire laminar, sistemas homogeneizadores, espectrofotómetros, diferentes tipos de sistemas de cromatografía (HPLC, GLC, TLC, etc.), equipos de electroforesis, termocicladores para PCR rutinaria y RT-QPCR, microscopios, centrifugadoras, etc. Las secuencias de ADN se determinarán utilizando los servicios de empresas externas. Además, se dispone de personal de apoyo técnico para tareas básicas como esterilización de medios de cultivo, cuidado de plantas, etc. para la realización de este proyecto.

Por otra parte, el Instituto ofrece servicios centralizados y equipos singulares para este plan de trabajo de implementación:

- espectrometría de masas GLC, espectrometría de masas HPLC y RMN 500MHz.
- Instalaciones de radioisótopos, incluyendo equipos de detección de radiaciones como RITA y contador de centelleo.
- Calorímetro diferencial de barrido (DSC).
- Microscopios de fluorescencia y confocal.
- Cámaras de crecimiento de plantas, que permiten cultivar organismos modificados genéticamente de clase 1.
- Instalación de invernadero adecuada para contener organismos modificados genéticamente en confinamiento L1.

En resumen, este proyecto cuenta con la infraestructura necesaria para llevar a cabo el plan de trabajo diseñado.

3. Historial científico técnico del grupo de investigación.

Nuestro grupo participa desde hace más de 10 años en diversos proyectos públicos y privados, sobre aceites y oleaginosas para aplicaciones industriales, como el proyecto «Biolubricantes basados en aceites vegetales y sus derivados sintéticos (BIOVESIN)», con 15 socios, OPIs y empresas. El proyecto desarrolló varios tipos de biolubricantes que se probaron en aerogeneradores de la empresa Gamesa durante más de dos años (en Asturias, España), también en camiones y motores de dos tiempos, y donde tuvimos el mayor éxito fue en el aceite

de ricino, donde se creó una línea de biolubricantes para la industria alimentaria comercializada (Verkol) que se está haciendo un hueco en el mercado.

Además, el grupo también informó de la clonación, secuenciación y caracterización bioquímica de la mayoría de los genes de girasol implicados en la síntesis *de novo* de ácidos grasos, como el complejo ácido graso sintasa, la proteína transportadora de acilo (ACP) holo-ACP sintasa, lipoil-ACP sintasa, estearoil-ACP desaturasa, o las acil-ACP tioesterasas, entre otros, donde la IP tuvo una participación significativa (AGL2008-01086, AGL2011-23187, AGL2014-53537-R, AGL2017-83449-R, y PID2020-113134RB-I00). Es importante destacar que analizamos la región promotora de FATA1 e identificamos al menos 25 proteínas ya descritas en genes de Arabidopsis relacionados con el desarrollo de semillas, la latencia de semillas, la respuesta al etileno y la regulación de la sacarosa, destacando proteínas de unión a CCAAT-, ABRE-L y G-box que podrían estar relacionadas con la regulación de LEAFY COTYLEDON1 (LEC1). Además, un estudio previo de la actividad de las acil-ACP tioesterasas de girasol utilizando diferentes isoformas de ACP de girasol mostró la importancia de estas últimas en los niveles de actividad.

Como plataforma biotecnológica alternativa, el grupo también ha utilizado la planta Camelina. Los proyectos AGL2011-23187 y BIOLUBS CC09-068 estudiaron diferentes aspectos de la síntesis de lípidos en Camelina, desarrollando un sistema CRISPR, clonando genes clave en ácidos grasos y generando un conjunto de transformantes de gran interés, incluyendo una línea con alto contenido en ácido palmítico y otra rica en ácido palmitoleico.

4. Resumen CVA de los IPs.

La carrera científica del Dr. **Joaquín J. Salas** comenzó con la caracterización bioquímica de la ruta de la lipoxigenasa en aceituna, realizada durante su tesis doctoral. Durante la misma fueron caracterizadas las enzimas lipoxigenasa, hidroperóxido liasa, alcohol deshidrogenasa y alcohol aciltransferasa de aceituna, estableciéndose las bases bioquímicas de la síntesis del aroma del aceite de oliva. A este respecto, se produjeron 7 publicaciones y se obtuvo un premio de la American Oil Chemists Society. Tras realizar la tesis el investigador realizó una estancia corta en la Cardiff University, donde trabajó en el control de flujo metabólico en oleaginosas, produciendo dos publicaciones y obteniendo un premio del Malaysian Palm oil Board. A continuación, trabajó como investigador contratado por la Michigan State University dentro de un contrato financiado por Dow Chemicals. Aquí realizó una caracterización bioquímica y molecular de distintas acil-ACP tioesterasas, enzimas que determinan la composición del aceite en semillas oleaginosas. Destaca dentro de este periodo el aislamiento y caracterización de un mutante *knock out* de FatB de Arabidopsis, el cual desveló la función de esta enzima en el metabolismo vegetal. Desde el año 2002 trabaja en el Instituto de la Grasa (CSIC), dentro del grupo de Genética y Bioquímica de Lípidos de Semillas (GGBLS). Dentro de este grupo ha participado en 23 proyectos y 11 contratos de investigación con empresas. Dentro de dicho grupo focalizó su investigación en la caracterización bioquímica y molecular de la acumulación de aceite de semillas de girasol y otras semillas de interés industrial. Este trabajo se complementó con los contratos con industria en los que se estudiaron distintas aplicaciones de lípidos naturales, aceites vegetales y colaboraciones puntuales con otros grupos de dentro y fuera del consejo superior de investigaciones científicas. Durante esta etapa se han producido 60 publicaciones, la mayoría de ellas en el primer cuartil, 3 patentes transferidas a industria y ha dirigido 6 tesis doctorales. Las líneas de trabajo futuras están enfocadas de la siguiente manera:

- i. Producción y caracterización de nuevos mutantes de girasol con nuevas composiciones en sus aceites que puedan ser de interés para la industria.
- ii. Estudio de la síntesis de ácidos grasos inusuales en especies oleaginosas.
- iii. Estudio de nuevos genes y enzimas relacionados con el metabolismo lipídico
- iv. Empleo de ricino y *Camelina sativa* como plataformas biotecnológica para la producción de aceites de interés industrial.
- v. Estudios de estrategias destinadas a incrementar el rendimiento y contenido de saturados dentro del proceso de fraccionamiento del aceite de girasol alto esteárico para su uso como sustituto del aceite de palma.

La **Dra. Mónica Venegas Calerón** es reconocida internacionalmente en el campo de los lípidos vegetales por su trabajo relacionado con su metabolismo en semillas oleaginosas. Licenciada en Biología por la Universidad de Sevilla, realizó su doctorado en el Instituto de la Grasa, con el objetivo de obtener grasas de girasol saludables para alimentación. En 2005 obtuvo el primer Doctorado Europeo del Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular de la Univ. de Sevilla. En noviembre de 2004, se unió al grupo del Profesor Johnathan A. Napier en Rothamsted Research (Reino Unido) dentro del proyecto europeo Lipgene del 6º Programa Marco para desarrollar un cultivo oleaginoso cuyo aceite contuviera un alto contenido en ácidos grasos omega-3, ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA), como alternativa a los aceites de pescado. Este trabajo contribuyó al establecimiento de una importante red internacional, además, le permitió convertirse en investigadora permanente de la BBSRC (febrero 2005), la obtención de 2 premios (Premio Extraordinario al trabajo de la BBSRC en 2005 y Ayuda para la investigación de mujeres jóvenes en 2007), así como 2 promociones internas dentro de la escala de investigadores de la BBSRC. Tras renunciar a su puesto en la BBSRC, en julio de 2007 se incorporó al Instituto de la Grasa con un contrato I3P-Doc, y posteriormente con un contrato Ramón y Cajal (1ª Área de Agricultura, convocatoria 2011) con el objetivo de producir aceites de interés para la industria petroquímica en cultivos oleaginosos no alimentarios.

La actividad investigadora ha sido simultaneada con tareas docentes. Primero como Profesora Asociada del Área de Genética de la Universidad Pablo de Olavide (2008-2017) y posteriormente como Profesora Contratada Doctor del Departamento de Genética de la Universidad de Sevilla (2017-2020). En la actualidad es científica titular OPIs en el Instituto de la Grasa donde continúa su labor investigadora en la producción de aceites vegetales a la carta. Además, es profesora externa de los Departamentos de Genética de ambas universidades.

Si bien, su labor investigadora se ha centrado principalmente en la síntesis de lípidos en plantas, posee una amplia versatilidad respecto a tópicos y sistemas de estudio colaborando con científicos de distintas disciplinas. Este trabajo de investigación ha dado lugar a 4 patentes internacionales (2 explotadas por BASF y 2 por Advanta Seeds), la publicación de 3 capítulos de libro, 49 artículos SCI (43 en Q1), 3 artículos y 1 libro de divulgación científica, se ha presentado en más de 75 congresos tanto a nivel nacional como internacional. Ha participado en el desarrollo de 29 proyectos públicos tanto nacionales como internacionales (4 como IP), 19 contratos de investigación con empresas (como Advanta, BASF, Repsol, Cargill, o Unilever; 4 como IP), reconocimiento de 3 sexenios de investigación (último 2020) y la certificación a efectos del Programa I3 (diciembre 2015).

Ha codirigido 6 tesis doctorales (2 de ellas en curso), 3 DEA, 1 JAE Intro, 4 TFM, 22 PFG. Al mismo tiempo, se ha involucrado en la transferencia de conocimiento científico realizando actividades de divulgación científica, así como de consultoría y asesoramiento científico a empresas, organización de congresos, revisión y edición de artículos de investigación (editora de la Revista

BAB del grupo Elsevier, y recientemente se le ha ofrecido trabajar como editora ejecutiva en el mismo grupo editorial), participación en diversos comités científicos (evaluación Proyecto Europeo Cropbooster-P, Comisión Nacional de Evaluación de Oleaginosas desde 2022, Reserva para el Comité Científico y las comisiones técnicas científicas de la EFSA (1/07/2024 hasta 30/06/2029), evaluación de la Norma CVN de la FECYT, Grupo 5 del Plan Estratégico CSIC 2022-2025, coordinación del libro 6 de la colección “Libro Blanco: Desafíos Científicos en Temas Estratégicos CSIC 2050”, evaluación del Programa “Fundación la Caixa”, Juan de la Cierva 2012, etc.).

5. Últimas publicaciones.

1. DeAndrés-Gil, C., Moreno-Pérez, A. J., Villoslada-Valbuena, M., Halsey, K., Martínez-Force, E., Garcés, R., ... & Venegas-Calderón, M. (2024). Characterisation of fatty acyl reductases of sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed. *Plant Science*, 341, 111992.
2. Venegas-Calderón, M., Garcés, R., Martínez-Force, E., Ruiz-Méndez, M. V., Velasco, L., Domínguez-Barroso, V., ... & Salas, J. J. (2023). High oleic castor as a new source of biodiesel 2G. *Industrial Crops and Products*, 204, 117273.
3. Salas, J. J., Bootello, M. A., Piispa, E., Hornyák, L., Venegas-Calderón, M., Martínez-Force, E., & Garcés, R. (2023). The effect of enzymatic interesterification on the high oleic-high stearic sunflower oil fractionation and the physico-chemical properties of stearins. *Lwt*, 184, 115042.
4. Garcés, R., Martínez-Force, E., Venegas-Calderón, M., Moreno-Pérez, A. J., & Salas, J. J. (2023). A GC/MS method for the rapid determination of disaturated triacylglycerol positional isomers. *Food chemistry*, 409, 135291.
5. Rodríguez-Rodríguez, M. F., Moreno-Pérez, A. J., Makni, S., Troncoso-Ponce, M. A., Acket, S., Thomasset, B., ... & Salas, J. J. (2021). Lipid profiling and oil properties of *Camelina sativa* seeds engineered to enhance the production of saturated and omega-7 fatty acids. *Industrial Crops and Products*, 170, 113765.
6. González-Thuillier, I., Venegas-Calderón, M., Moreno-Pérez, A. J., Salas, J. J., Garcés, R., von Wettstein-Knowles, P., & Martínez-Force, E. (2021). Sunflower (*Helianthus annuus*) fatty acid synthase complex: β -Ketoacyl-[acyl carrier protein] reductase genes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, 689-699.
7. Sánchez-Álvarez, A., Ruíz-López, N., Moreno-Pérez, A. J., Martínez Force, E., Garcés, R., & Salas, J. J. (2019). Agrobacterium-mediated transient gene expression in developing *Ricinus communis* seeds: a first step in making the castor oil plant a chemical biofactory. *Frontiers in plant science*, 10, 1410.
8. Broughton, R., Ruíz-Lopez, N., Hassall, K. L., Martínez-Force, E., Garcés, R., Salas, J. J., & Beaudoin, F. (2018). New insights in the composition of wax and sterol esters in common and mutant sunflower oils revealed by ESI-MS/MS. *Food chemistry*, 269, 70-79.
9. Ruiz-Lopez, N., Broughton, R., Usher, S., Salas, J. J., Haslam, R. P., Napier, J. A., & Beaudoin, F. (2017). Tailoring the composition of novel wax esters in the seeds of transgenic *Camelina sativa* through systematic metabolic engineering. *Plant Biotechnology Journal* 15 (7): 837-849.
10. Venegas-Calderón, M., Sánchez, R., Salas, J.J., Garcés, R. and Martínez-Force, E. (2016) Molecular and biochemical characterization of the OLE-1 high-oleic castor seed (*Ricinus communis* L.) mutant. *Planta* 244: 245-258.