

Ingeniería genética contra estrés abiótico en cultivos neotropicales: osmolitos, factores de transcripción y CRISPR/Cas9

Genetic engineering against abiotic stress in Neotropical crop plants: osmolites, transcription factors and CRISPR/Cas9

*Paula Carvajal-Campos** y *Víctor M. Jiménez***

DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v23n2.88487

RESUMEN

El neotrópico es sitio de origen de gran variedad de plantas que actualmente son cultivadas con éxito en diferentes regiones del mundo. Sin embargo, condiciones climáticas adversas, que se pueden ver acrecentadas por efectos del cambio climático antropogénico, pueden afectar su rendimiento y productividad debido a las situaciones de estrés abiótico que se pueden generar. Como alternativa para contrarrestar estos efectos, se ha experimentado con modificaciones genéticas, particularmente en genes relacionados con la producción de osmolitos y factores de transcripción que han llevado a que estas plantas, a nivel experimental, tengan mayor tolerancia a estrés oxidativo, altas y bajas temperaturas y fotoinhibición, sequía y salinidad, mediante la acumulación de osmoprotectores, la regulación en la expresión de genes y cambios en el fenotipo. En este trabajo se presentan y describen las estrategias metodológicas planteadas con estos fines y se complementan con ejemplos de trabajos realizados en cultivos de origen neotropical de importancia económica, como maíz, algodón, papa y tomate. Además, y debido a la novedad y potencial que ofrece la edición génica por medio del sistema CRISPR/Cas9, también se mencionan trabajos realizados en plantas con origen neotropical, enfocados en comprender e implementar mecanismos de tolerancia a sequía. Las metodologías aquí descritas podrían constituirse en opciones prácticas para mejorar la seguridad alimentaria con miras a contrarrestar las consecuencias negativas del cambio climático antropogénico.

Palabras clave: algodón, cambio climático, maíz, papa, tomate.

ABSTRACT

The neotropics are the site of origin of a large variety of plants that are currently successfully cultivated in different regions of the world. However, adverse climatic conditions, which can be exacerbated by the effects of anthropogenic climate change, can affect their yield and productivity due to the abiotic stresses that can be generated. As an alternative to counteract these effects, genetic modifications have been experimentally implemented, particularly in genes related to osmolyte production and transcription factors, which have ultimately led to increased tolerance of these plants to oxidative stress, high and low temperatures and photoinhibition, drought and salinity, through the accumulation of osmoprotectants, regulation of gene expression and changes in phenotype. In this work, the methodological strategies proposed to these aims are presented and described, and they are complemented with examples of studies carried out in economically important crops of neotropical origin, such as corn, cotton, potato and tomato. In addition, and due to the novelty and potential that gene editing offers through the CRISPR/Cas9 system, works conducted in plants with

* M.Sc., CIGRAS, Universidad de Costa Rica, 2060 San Pedro, Costa Rica – paula.carvajalcampos@ucr.ac.cr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9350-1722>.

** Ph.D., CIGRAS/IIA, Universidad de Costa Rica, 2060 San Pedro, Costa Rica – victor.jimenez@ucr.ac.cr, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3771-6072>.

neotropical origin, focused on understanding and implementing drought tolerance mechanisms, are also mentioned. The methodologies described here could become practical options to achieve food security in the frame of the adverse effects caused by anthropogenic climate change.

Keywords: cotton, climate change, maize, potato, tomato.

Recibido: Noviembre 20 de 2020 **Aprobado:** Diciembre 3 de 2021

INTRODUCCIÓN

El neotrópico es una vasta región del continente americano caracterizada por su alta biodiversidad. Abarca desde las zonas costeras de Sinaloa y Baja California, flanqueando el Golfo de California en Norteamérica, hasta Brasil en Sudamérica, e incluye las islas del Caribe (Antonelli y Sanmartín, 2011; Udvardy, 1975). Esta región se caracteriza por presentar una gran variedad de hábitats, con grandes contrastes en cuanto a régimen de lluvias, humedad ambiental, temperatura, altitud, etc. La alta diversidad de plantas nativas también se ve reflejada en una gran variedad de plantas para uso agrícola. Entre los cultivos originados en esta región, y que han adquirido importancia a nivel mundial, se encuentran diversos tubérculos y raíces mono y dicotiledóneos, como papa (*Solanum tuberosum*), camote o boniato (*Ipomoea batatas*), yuca o mandioca (*Manihot esculenta*), malanga, cocoñame o tiquizque (*Xanthosoma* spp.), ñame (*Dioscorea alata*), plantas leguminosas [diversas especies de frijol o poroto, habichuela, judía, alubia (*Phaseolus* spp.), cucurbitáceas (*Cucurbita pepo*, *C. maxima*, *C. moschata*, *C. argyrosperma*, *C. ficifolia*, *Sechium edule*), algodón (*Gossypium hirsutum*), maíz (*Zea mays*), tomate (*Solanum lycopersicum*), chiles o pimientos (*Capsicum annuum*), maní o cacahuate (*Arachis hypogaea*), palmas (*Bactris* spp., *Euterpe* spp., *Acrocomia* spp., *Elaeis oleifera*, *Socratea exorrhiza*), y especies frutales (*Pouteria sapota*, *Anacardium occidentale*, *Spondias purpurea*, *Hylocoereus* spp., *Fragaria* spp., *Theobroma cacao*) (Bernal *et al.*, 2011; Bisognin, 2002; Khoury *et al.*, 2016; Piperno, 2011).

Muchas plantas de origen neotropical son cultivadas ampliamente alrededor del mundo. China es un país que destaca en cuanto a sus niveles de producción de tomate, papa, algodón y maíz. Entre los años 2016 y 2017 se produjeron 58,49 millones de toneladas (MT) de tomate y 97,40 MT de papa, con lo que ese país ocupó el primer lugar en cuanto a producción mundial de esos cultivos. Con respecto al algodón, India fue el mayor productor en el mundo durante este período con 17,92 MT, seguido de cerca por China con 16,59 MT. De los cultivos mencionados, el maíz fue el que tuvo mayor producción mundial durante esos años, ya que

esta fue de 377,87 MT en Estados Unidos y 261,34 MT en China (FAO, 2016).

A pesar de los altos niveles de productividad que se ha alcanzado con estos cultivos de origen neotropical, existe una preocupación creciente debido a la amenaza del predominio de condiciones climáticas cada vez más extremas debido al cambio climático antropogénico. Estudios realizados en China proyectan que entre el 2020 y el 2049 incrementa la frecuencia, severidad y duración de las sequías (Leng *et al.*, 2015). Además, se estima que para el 2100 se reduzca el rendimiento de la producción entre 3 y 12% por el cambio climático (Chen *et al.*, 2016). Para tratar de contrarrestar y adaptarse a las modificaciones climáticas, en China se han generado nuevas políticas para incrementar el uso eficiente del agua, e incluso en este país se ha apostado por la biotecnología para desarrollar cultivares resistentes al estrés mediante el Proyecto Semilla (Seed Project, en inglés) (Piao *et al.*, 2010).

Al igual que en China, los Estados Unidos y la India han visto reflejados los efectos de condiciones climáticas variables, con efectos negativos sobre su producción agrícola. Esta situación trasciende, en mayor o menor grado, la producción de alimentos en todo el mundo. Por esta razón, se deben adaptar los agroecosistemas a las condiciones ambientales cambiantes e implementar políticas favorables hacia el medio ambiente para reducir los impactos negativos sobre la seguridad alimentaria (Chattopadhyay, 2010; Walthall *et al.*, 2012). Además del cambio climático, el crecimiento poblacional es otro reto que se debe afrontar. Para el 2050 se proyecta que la población mundial alcance los nueve mil millones de habitantes, por lo que se deben desarrollar nuevas estrategias de cultivo, por ejemplo, mediante la implementación de la biotecnología, para satisfacer la demanda creciente de alimentos, especialmente en condiciones climáticas adversas (Fang y Xiong, 2015; Rani *et al.*, 2016; Scheben y Edwards, 2017; Singh y Laxmi, 2015).

Las plantas, al ser organismos sésiles, son susceptibles a sufrir estrés a temperaturas extremas de calor y frío, así como a sequía y salinidad. Cierta grado de tolerancia a estos factores abióticos puede ser adquirida mediante

mejoramiento genético convencional (Varshney *et al.*, 2011), o bien por mutagénesis inducida (Chaudhary y Chaudhary, 2014). Con esta última técnica se utilizan métodos químicos o físicos, en donde el ADN de la planta es mutado aleatoriamente o de manera dirigida para adquirir nuevas características (Chaudhary y Chaudhary, 2014). Otra estrategia para adquirir tolerancia al estrés abiótico es el mejoramiento genético con apoyo de selección asistida por marcadores (MAS, por sus siglas en inglés), retrocruzamiento asistido por marcadores (MABC, por sus siglas en inglés), selección recurrente asistida por marcadores (MARS, por sus siglas en inglés) o selección genómica (GWS, por sus siglas en inglés) (Varshney *et al.*, 2011). Por último, la ingeniería genética ha sido ampliamente utilizada para sobrellevar el estrés abiótico ya que ofrece un sinnúmero de opciones para mejorar los cultivos (Parmar *et al.*, 2017).

La ingeniería genética permite conferir tolerancia al estrés abiótico mediante diversas estrategias, como ARNs pequeños no codificantes (Cabello *et al.*, 2014), edición genética mediante el uso del sistema de repeticiones palindrómicas cortas agrupadas y regularmente interespaciadas (CRISPR)/asociado a la proteína CRISPR (Cas)9 (CRISPR/Cas9) (Shi *et al.*, 2015) o la sobreexpresión de genes mediante la transformación genética. Para la utilización de esas técnicas es necesario que se hayan identificado y caracterizado molecularmente los genes que estén relacionados con la respuesta al estrés. Entre estos genes están los afines con el transporte de iones y agua, la síntesis de sustancias osmoprotectoras como glicina-betaína, manitol y prolina, transportadores de exclusión de iones, mecanismos para la detoxificación de especies de oxígeno reactivo (ROS), producción de moléculas chaperonas y controles de la regulación transcripcional (Joshi *et al.*, 2019; Parmar *et al.*, 2017; Patel *et al.*, 2019).

La presente revisión está enfocada en presentar los esfuerzos de investigación realizados en cultivos de origen neotropical para conferir tolerancia a diferentes tipos de estrés abiótico mediante la expresión de genes relacionados con la síntesis de osmolitos, con factores de transcripción (FT) y la utilización del sistema CRISPR/Cas9. Si bien el tabaco (*Nicotiana tabacum*) es también una planta de origen neotropical, se ha transformado genéticamente más como planta modelo que para conferir tolerancia a estrés abiótico con fines más prácticos, por eso no se está incluyendo en esta revisión.

Estrategias para incrementar la tolerancia al estrés abiótico

Para conferir tolerancia a diversos tipos de estrés abiótico se han desarrollado diferentes estrategias. Se han

aplicado, desde técnicas sencillas en cuanto al uso de recursos tecnológicos, como el mejoramiento genético convencional (Ashraf, 2010), hasta las desarrolladas más recientemente, como el sistema CRISPR/Cas9, (Osakabe *et al.*, 2016). Por otra parte, se ha modificado la expresión de microARNs relacionados con la respuesta al estrés abiótico (Shriram *et al.*, 2016), ligasas E3 para la ubiquitinación de proteínas relacionadas con el estrés (Lyzenga y Stone, 2012), así como también la expresión de genes involucrados en las vías metabólicas de fitohormonas como ácido abscísico (ABA), auxinas, citoquininas, etileno y brasinoesteroides (Wani *et al.*, 2016).

De igual manera, para conferir cierto grado de tolerancia se ha modificado la expresión de compuestos osmoprotectores, detoxificantes, proteínas abundantes en embriogénesis tardía (LEA, por sus siglas en inglés), transportadores, proteínas de choque térmico, genes multifuncionales para la biosíntesis de lípidos, FT de respuesta a estrés, y genes involucrados en señales de transducción (Bhatnagar-Mathur *et al.*, 2008). Entre otras estrategias se ha realizado el fenotipado de diferentes especies para crear mapas genéticos de locus de rasgo cuantitativo (QTL, por sus siglas en inglés), que permitan elucidar la base molecular de la respuesta al estrés abiótico (Roy *et al.*, 2011) y se ha inoculado plantas y suelo con rizobacterias promotoras del crecimiento, las cuales provocan cambios químicos y físicos en las plantas para permitir mitigar el estrés por salinidad y sequía (Kumar *et al.*, 2018).

Todas las estrategias mencionadas anteriormente han sido tratadas en detalle por medio de revisiones bibliográficas; sin embargo, ningún trabajo de revisión se ha enfocado específicamente en los estudios realizados para conferir tolerancia al estrés abiótico en cultivos de origen neotropical. La expresión de genes que codifican para sustancias osmoprotectoras y FT ha sido sujeto de estudio en varios trabajos experimentales con estos cultivos, por lo cual esta revisión se va a enfocar en estas dos áreas, además de los trabajos que involucran el sistema CRISPR/Cas9, por ser esta una técnica con gran potencial.

Acumulación de osmolitos

Los osmolitos son sustancias orgánicas o inorgánicas que las plantas tienen la capacidad de acumular. Estos compuestos actúan como osmoprotectores ya que no son tóxicos para la célula, no generan ningún efecto dañino en las membranas, estabilizan la superficie de unión al agua y mantienen la estructura espacial de las macromoléculas. Sustancias orgánicas de este tipo, sintetizadas por las plantas, incluyen azúcares solubles, polioles, prolina, glicina-betaína (GB), ácidos orgánicos,

trehalosa, espermidinas, entre otros (Fang y Xiong, 2015; Farooq *et al.*, 2012; Hadiarto y Tran, 2011; Singh *et al.*, 2015). Diferentes cultivos de origen neotropical han sido modificados genéticamente con genes que participan en la biosíntesis de osmolitos (Tabla 1). Estos se han aislado de bacterias (He *et al.*, 2013; Lv *et al.*, 2007; Quan *et al.*, 2004b; Zhang *et al.*, 2011b), levaduras (Dong *et al.*, 2011; Stiller *et al.*, 2008) y también de otras plantas, o bien se ha inducido la sobreexpresión de genes nativos (Moghaieb *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2009). Lo anterior se ha hecho con el fin de aumentar la acumulación de estos compuestos y, en consecuencia, incrementar la tolerancia de las plantas a condiciones abióticas adversas.

Glicina-betaína (GB)

La GB es una molécula sintetizada a partir de colina o glicina mediante dos enzimas clave, la colina monooxigenasa (CMO) y la betaína aldehído deshidrogenasa (BADH). La GB puede interactuar con los dominios hidrofílicos e hidrofóbicos de algunas macromoléculas, para así estabilizar la estructura y actividad de complejos proteicos y mantener la integridad de las membranas celulares ante diversos tipos de estrés abiótico (Ashraf, 2010; Sakamoto y Murata, 2002). Con este fin se han modificado cultivos de origen neotropical como maíz (Quan *et al.*, 2004a, 2004b; He *et al.*, 2013), algodón (Lv *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2011b), papa (Ahmad *et al.*, 2008), y tomate (Goel *et al.*, 2011; Jia *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2014; Moghaieb *et al.*, 2000). Las plantas así genéticamente modificadas (GM) lograron adquirir una mayor tolerancia a la sequía (Ahmad *et al.*, 2008; Goel *et al.*, 2011; He *et al.*, 2013; Lv *et al.*, 2007; Quan *et al.*, 2004b), al frío (Quan *et al.*, 2004a), a la fotoinhibición ocasionada por el calor (Li *et al.*, 2014) y a la salinidad (Ahmad *et al.*, 2008; Goel *et al.*, 2011; Jia *et al.*, 2002; Moghaieb *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2011b).

Fisiológicamente, la respuesta observada se debe a que las plantas GM presentan un mayor contenido de GB o sus precursores antes y después de ser estresadas, lo cual tiene como consecuencia menor pérdida de electrolitos, mayor tasa fotosintética (Ahmad *et al.*, 2008; He *et al.*, 2013; Lv *et al.*, 2007; Quan *et al.*, 2004b; Zhang *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2011b), mejor ajuste osmótico (Lv *et al.*, 2007; Moghaieb *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2011b), menor peroxidación de las membranas (He *et al.*, 2013; Lv *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2011b) y mayor contenido de agua (Ahmad *et al.*, 2008; Goel *et al.*, 2011; Lv *et al.*, 2007). Adicionalmente, se ha encontrado que el aumento en la concentración de GB favorece la acumulación de la proteína D1, la cual se ha relacionado con una rápida

reparación del fotosistema II al exponer plantas de tomate GM a 42°C, lo cual genera una disminución en la fotoinhibición por calor (Li *et al.*, 2014).

En cuanto al rendimiento de los cultivos, las modificaciones genéticas con genes relacionados con la síntesis de GB han tenido un efecto positivo en plantas de algodón GM debido a que al sembrarlas en suelos salinos se ha logrado incrementar el rendimiento con respecto a las plantas sin transformar (Zhang *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2011b). De manera similar, en maíz se ha encontrado un mayor rendimiento, medido por el número de granos en las mazorcas (Quan *et al.*, 2004b). Al realizar modificaciones genéticas puntuales en plantas, pueden ocurrir cambios adicionales y no esperados en el fenotipo (pleiotrópicos), que pueden ser negativos o positivos. Es importante confirmar que no ocurran efectos pleiotrópicos negativos, tal y como lo confirmaron He *et al.* (2013) con maíz, quienes al cultivar las plantas GM y los controles bajo condiciones normales no encontraron diferencias en el desarrollo de las mismas.

Trehalosa

La trehalosa es otro osmolito que las plantas utilizan para la osmoprotección. Este es un disacárido compuesto por dos moléculas de α -glucosa unidas por un enlace glucosídico de tipo α -(1 \rightarrow 1). Se ha relacionado este compuesto con la tolerancia al estrés abiótico debido a que posee la capacidad de estabilizar membranas y moléculas, es estable a altas temperaturas y posee baja capacidad de reacción. Este carbohidrato es capaz de proteger del estrés a microorganismos y al grupo denominado "plantas de resurrección" (*Myrothamnus flabellifolius*, *Selaginella tamariscina* y *Selaginella lepidophylla*), las cuales se caracterizan por poseer una resistencia natural a la sequía (Fernandez *et al.*, 2010; Yatsyshyn *et al.*, 2017). Debido a la capacidad osmoprotectora de la trehalosa, se han aislado los genes que codifican para las enzimas trehalosa-6-fosfato sintasa (TPS) y trehalosa-6 fosfato fosfatasa (TPP) con el fin de conferir una mayor tolerancia a la sequía a cultivos de origen neotropical como papa, maíz y tomate mediante transformación genética (Cortina y Culiáñez-Macià, 2005; Lyu *et al.*, 2013; Nucio *et al.*, 2015; Stiller *et al.*, 2008).

La papa es un cultivo sensible a la sequía. Para reducir esta sensibilidad se sobreexpresó el gen *TPS1* de *Saccharomyces cerevisiae* fusionado con el promotor inducible por sequía *StDS2*; sin embargo, en ese caso no hubo sobreexpresión en respuesta al déficit hídrico, sino solamente una baja expresión constitutiva (Stiller *et al.*, 2008). Bajo condiciones de sequía, las plantas de papa GM presentaron menor pérdida de agua y mayor conductancia estomática, a la vez que mantuvieron la tasa

Tabla 1. Cultivos de origen neotropical modificados genéticamente para sobreexpresar genes relacionados con la producción de osmolitos.

Gen de Interés	Planta transformada	Recurso génico	Osmolito	Tolerancia adquirida	Referencia
<i>betA</i>	Maíz	<i>E. coli</i>	GB	Sequía	Quan et al. (2004b)
<i>betA</i>	Algodón	<i>E. coli</i>	GB	Sequía	Ly et al. (2007)
<i>betA</i>	Algodón	<i>E. coli</i>	GB	Salinidad	Zhang et al. (2011b)
<i>betA</i>	Maíz	<i>E. coli</i>	GB	Frío	Quan et al. (2004a)
<i>codA</i>	Papa	<i>Arthrobacter globiformis</i>	GB	Sequía, salinidad y estrés oxidativo	Ahmad et al. (2008)
<i>codA</i>	Papa	<i>A. globiformis</i>	GB	Sequía	You et al. (2019)
<i>codA</i>	Tomate	<i>A. globiformis</i>	GB	Salinidad y estrés hídrico	Goel et al. (2011)
<i>codA</i>	Tomate	<i>A. globiformis</i>	GB	Salinidad	Wei et al. (2017)
<i>AhCMO</i>	Algodón	<i>Atriplex hortensis</i>	GB	Salinidad	Zhang et al. (2009)
<i>BADH</i>	Tomate	Sorgo	GB	Salinidad	Moghaieb et al. (2000)
<i>BADH</i>	Tomate	<i>A. hortensis</i>	GB	Salinidad	Jia et al. (2002)
<i>BADH</i>	Tomate	Espinaca	GB	Fotoinhibición por calor	Li et al. (2014)
<i>BADH</i>	Maíz	<i>Atriplex micrantha</i>	GB	Salinidad	Di et al. (2015)
<i>ApGSMT2</i> y <i>ApDMT2</i>	Maíz	<i>Aphanothece halophytica</i>	GB	Sequía	He et al. (2013)
<i>ApGSMT2</i> y <i>ApDMT2</i>	Algodón	<i>A. halophytica</i>	GB	Salinidad	Song et al. (2018)
<i>TPS1</i>	Tomate	<i>S. cerevisiae</i>	Trehalosa	Sequía, salinidad y estrés oxidativo	Cortina y Culiáñez-Macià (2005)
<i>TPS1</i>	Papa	<i>S. cerevisiae</i>	Trehalosa	Sequía	Stiller et al. (2008)
<i>TPS/TPP</i>	Tomate	<i>E. coli</i>	Trehalosa	Sequía y salinidad	Lyu et al. (2013)
<i>TPSP</i>	Tomate	<i>E. coli</i>	Trehalosa	Calor	Lyu et al. (2018)
<i>TPSP</i> y <i>MTSH</i>	Papa	<i>E. coli</i>	Trehalosa	Salinidad	Shim et al. (2019)
<i>Tpp1</i>	Maíz	Arroz	Trehalosa	Sequía	Nuccio et al. (2015)
<i>mtlD</i>	Papa	<i>E. coli</i>	Manitol	Salinidad	Rahnama et al. (2011)
<i>mtlD</i>	Maní	<i>E. coli</i>	Manitol	Sequía	Bhauso et al. (2014)
<i>mtlD</i>	Maní	<i>E. coli</i>	Manitol	Salinidad	Patel et al. (2016)
<i>mtlD</i>	Maní	<i>E. coli</i>	Manitol	Sequía	Patel et al. (2017)
<i>mtlD</i>	Tomate	<i>E. coli</i>	Manitol	Frío, sequía y salinidad	Khare et al. (2010)
<i>IbMIPS1</i>	Camote	Camote	Myo-inositol	Sequía y salinidad	Zhai et al. (2016)
<i>P5CS</i>	Caña de azúcar	<i>Vigna aconitifolia</i>	Prolina	Sequía	Molinari et al. (2007)
<i>P5CS</i>	Caña de azúcar	Caña de azúcar	Prolina	Sequía	Li et al. (2018)
<i>P5CS</i>	Papa	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	Prolina	Salinidad	Hmida-Sayari et al. (2005)

AhCMO: colina monoxygenasa, *ApDMT2*: dimetilglicina metiltransferasa, *ApGSMT2*: glicina sarcosina metiltransferasa, *BADH*: betaína aldehído deshidrogenasa, *betA*: colina deshidrogenasa, *codA*: colina oxidasa, GB: glicina-betaína, *IbMIPS1*: myo-inositol-1-fosfato sintasa, *mtlD*: manitol-1-fosfato deshidrogenasa, *MTSH*: maltooligosiltrehalosa sintasa/trehalohidrolasa, *P5CS*: Δ^1 -pirrolina-5-carboxilato sintetasa, *Tpp1*: trehalosa-6-fosfato fosfatasa, *TPS/TPP*: gen híbrido de trehalosa-6-fosfato sintasa y trehalosa-6-fosfato fosfatasa, *TPSP*: trehalosa-6-fosfato sintasa/fosfatasa, *TPS1*: trehalosa sintasa.

fotosintética, con respecto a las plantas no GM. Sin embargo, en condiciones normales de riego se encontraron efectos pleiotrópicos negativos, como reducción del crecimiento, menor densidad estomática y de fijación de CO₂, los cuales podrían deberse a la mencionada expresión constitutiva del gen (Stiller *et al.*, 2008). Dichas modificaciones se pueden deber a cambios identificados en la regulación de ciertos genes, como por ejemplo, genes implicados en fotosíntesis, fijación de carbono, ciclo de Krebs y metabolismo principal de los carbohidratos (Kondrák *et al.*, 2011). Adicionalmente, las plantas GM y silvestres mostraron un aumento en el contenido de rafinosa, inositol y prolina luego del estrés por sequía, lo cual puede sugerir que este es uno de los mecanismos naturales de la papa para responder a ese tipo de estrés (Kondrák *et al.*, 2012).

El tomate es otro cultivo neotropical que ha sido modificado genéticamente con miras a incrementar la producción de trehalosa, en este caso mediante la sobreexpresión de un gen híbrido aislado de *Escherichia coli* que codifica para TPS y TPP. Esta modificación aumentó la tolerancia de la planta a sequía y salinidad sin provocar efectos pleiotrópicos negativos, la cual se correspondió con un aumento de hasta cuatro veces en el contenido de trehalosa, con respecto a las plantas no GM. Para verificar si hubo un incremento en la tolerancia a la sequía se eliminó el riego por siete días, y al rehidratar las plantas, sólo las GM sobrevivieron. Para confirmar la tolerancia a la salinidad, se cultivó las plantas con 150 mM de NaCl y se encontró una reducción en la tasa fotosintética únicamente en las plantas no GM (del 31%) (Lyu *et al.*, 2013).

En otra investigación realizada con tomate, se sobreexpresó el gen *TPS1* de *S. cerevisiae*. Este les confirió a las plantas GM mayor tolerancia a salinidad, sequía y estrés oxidativo. Al alterar la ruta de biosíntesis de carbohidratos por introducir este gen, las plantas GM presentaron una mayor acumulación de almidón y clorofila, que podrían explicar los cambios pleiotrópicos observados, como desarrollo aberrante de las raíces, hojas con color verde oscuro y con mayor rigidez, y tallos con mayor grosor, comparados con las plantas sin modificar. A pesar de la aparición de estos cambios pleiotrópicos que afectaron la estructura de las plantas GM, no hubo una disminución en la producción al aplicar o no estrés abiótico, por lo que sí podría utilizarse como una estrategia para mitigar los efectos del cambio climático, al menos en esta especie (Cortina y Culiáñez-Macià, 2005).

Al igual que la papa, el maíz es un cultivo susceptible a la sequía, principalmente durante la floración, etapa determinante para definir el rendimiento de cosecha. Debi-

do a esto, se buscó modificar los niveles de trehalosa-6-fosfato (T6P), que es el precursor de la trehalosa, mediante la sobreexpresión de *TPP* en tejidos femeninos reproductivos con el uso de un promotor floral. La T6P se encarga de regular el crecimiento de la planta, controlar la utilización de la sacarosa e inhibe la expresión de la proteína SnRK1. En conjunto SnRK1 y T6P son puntos de control entre el crecimiento y la respuesta a estrés (Nuccio *et al.*, 2015). Esta vía de señalización (T6P/SnRK1) permite que se dé el rápido crecimiento de las plantas luego de exponerse a condiciones de estrés. Al inhibirse la actividad de SnRK1, T6P incrementa la expresión de genes biosintéticos en respuesta a la acumulación de sacarosa en los tejidos. Entre los genes regulados por esta vía se encuentran varios que participan en síntesis de la pared, nucleótidos y proteínas (Nunes *et al.*, 2013).

De esa manera, la modificación de la vía de señalización T6P/SnRK1 con la sobreexpresión de *TPP* permitió incrementar el contenido de sacarosa en las mazorcas en estados iniciales de desarrollo y mayor número de granos por mazorca en plantas de maíz bajo sequía severa. En consecuencia, se dio un aumento en el rendimiento del cultivo con respecto al testigo en esas condiciones. Adicionalmente, se observó una reducción en la concentración de la T6P y, en consecuencia, un aumento en la actividad de la SnRK1 (Nuccio *et al.*, 2015).

Manitol

El manitol es un poliol que juega un papel importante en la tolerancia al estrés abiótico (Ashraf, 2010). Esta molécula es naturalmente sintetizada por algunos hongos, algas, líquenes y plantas superiores, así como por bacterias como *E. coli* (Lewis y Smith, 1967). Se ha aislado el gen *manitol-1-fosfato deshidrogenasa (mtlD)* de dicha bacteria, que convierte el manitol-1-fosfato en manitol, para modificar cultivos neotropicales como tomate, papa y maní, y que así sinteticen más manitol. La sobreexpresión de este gen causó un incremento en la tolerancia a uno o más tipos de estrés abiótico, como sequía, salinidad y frío (Bhauso *et al.*, 2014; Khare *et al.*, 2010; Rahnama *et al.*, 2011).

En condiciones de déficit hídrico y salinidad la sobreexpresión de este gen permitió que plántulas con 5 días de edad y plantas adultas GM de maní mostraran una menor pérdida del turgor celular al ser comparadas con sus equivalentes no transformados. Esto se evidenció, además, por el mejor desempeño de estas plantas en cuanto a otros parámetros físico-químicos, como contenido de manitol, niveles de prolina y clorofila total, potencial osmótico y pérdida de electrolitos (Bhauso *et al.*, 2014). En el caso del tomate, las plantas GM lograron mante-

ner una mayor biomasa fresca, con respecto a las plantas no GM. Adicionalmente, se encontró que estas plantas GM de tomate presentaban una mayor tolerancia al frío, lo cual fue demostrado luego de exponer las plantas por 48 h a 4°C. Las plantas no GM murieron durante el período de exposición al frío, mientras que las plantas GM lograron tolerar este estrés. Al realizar pruebas para determinar el estado fisiológico de las plantas transgénicas luego del estrés, se encontró que estas mostraron un aumento en el contenido de agua y en la actividad de las enzimas superóxido dismutasa y catalasa, ambas con actividad antioxidante, así como menor pérdida de electrolitos e incremento en la peroxidación lipídica (Khare *et al.*, 2010).

Al provocar estrés salino en plantas de tomate y papa que sobreexpresan el gen *mtlD* se determinó que estas adquirieron mayor tolerancia a la salinidad causada por NaCl (Khare *et al.*, 2010; Rahnama *et al.*, 2011). Al germinar semillas de tomate en 200 mM de NaCl, 24-30% de las semillas GM germinó, mientras que ninguna semilla de las plantas silvestres logró hacerlo (Khare *et al.*, 2010). Con respecto a la papa, al cultivar plantas, tanto en hidroponía (100 mM de NaCl) como en cultivo *in vitro* (50 mM de NaCl), se determinó que las plantas GM presentaron una menor reducción en peso fresco de los brotes (0-17,3%) con respecto al testigo (0 mM de NaCl), mientras que en las plantas no transformadas el peso se redujo en 30,1-76,5%. Las plantas GM acumularon una baja concentración de manitol; sin embargo, esto fue suficiente para que actuara como osmoprotector. Adicionalmente, en las plantas modificadas esta molécula permitió un mejor ajuste osmótico en la raíz (Rahnama *et al.*, 2011).

Factores de transcripción (FT)

Los FT son proteínas que pueden regular cambios en la expresión de un grupo específico de genes. Entre las familias FT en las que se ha encontrado interacción con genes relacionados con la respuesta al estrés abiótico se pueden mencionar los MYB, WRKY, NAC, proteínas básicas de *zipper* de leucina (bZIP), y FT de respuesta a la deshidratación (DREB) (Fang y Xiong, 2015; Hadiarto y Tran, 2011; Hussain *et al.*, 2011; Singh y Laxmi, 2015), los cuales han sido empleados para modificar cultivos de origen neotropical (Tabla 2). En esta sección se detallarán ejemplos de aplicaciones que se le han dado a estos FT con miras a mitigar estrés abiótico en especies con un origen en el neotrópico.

MYB

Los FT MYB se caracterizan por poseer un dominio de unión MYB al ADN. Este dominio se compone por tres repeticiones imperfectas de 50 a 53 aminoácidos que

forman los giros y motivos en forma de hélice R1, R2 y R3. En animales, las proteínas MYB juegan un papel relevante en el control del ciclo celular, mientras que en plantas están involucrados en procesos fisiológicos en condiciones normales y de estrés [revisado por Jung *et al.* (2008) y Ding *et al.* (2009)].

La sobreexpresión de MYB en cultivos de origen neotropical ha permitido conferir tolerancia a sequía (Chen *et al.*, 2015; Shin *et al.*, 2011) y a alta temperatura (40°C) (Meng *et al.*, 2015). La tolerancia a sequía ha sido adquirida por plantas de papa al sobreexpresar el FT *StMYBIR-1* que regula la pérdida de agua (Shin *et al.*, 2011), y se pierde en plantas de algodón (*Gossypium barbadense*) al silenciar el FT *GbMYB5* que poseen naturalmente (Chen *et al.*, 2015). Con respecto a la tolerancia al calor, esta se ha incrementado al modificar plantas de tomate para que sobreexpresen el FT *LeAN2* que induce la acumulación de antocianinas y la regulación positiva de genes relacionados con la ruta metabólica de estos pigmentos (*LeDFR*, *LeF3H*, *LeCHS1* y *LeCHS2*) (Meng *et al.*, 2015).

La adquisición de tolerancia a través de un MYB también puede involucrar cambios fisiológicos en las plantas GM. Para tolerar mejor la sequía se ha visto que los MYB aumentan la sensibilidad al ABA exógeno y, en consecuencia, causan un cierre estomático más rápido. Al ser las células guarda más sensibles al ABA, la respuesta para el cierre estomático en condiciones de sequía ocurrirá con mayor velocidad para así evitar la deshidratación (Shin *et al.*, 2011). También, puede ocurrir un aumento en los niveles de enzimas antioxidantes y en los niveles de prolina, que puede actuar como osmoprotector de las células (Chen *et al.*, 2015). Para aliviar el estrés por calor, además de acumular antocianinas, las plantas incrementan la protección del fotosistema II por acumulación de proteína D1, y se da la reducción de ROS (O_2^- y H_2O_2) mediante el incremento de la actividad antioxidante no enzimática (Meng *et al.*, 2015).

WRKY

Los genes WRKY conforman la familia más grande de FT que se ha encontrado únicamente en plantas (Eulgem *et al.*, 2000). Los productos de estos genes poseen una secuencia WRKYGQK invariable en el extremo N-terminal y un motivo C-X₄₋₅-C-X₂₂₋₂₃-H-X₁-H en el extremo C-terminal; además, poseen combinaciones conservadas de residuos de histidina y cisteína separados por dedos de zinc (Rushton *et al.*, 1995). La expresión de estos factores es inducida rápidamente como señal de defensa o por la exposición a estrés biótico y abiótico (Jiang *et al.*, 2017). Adicionalmente, regulan las vías de transducción de algunas señales hormonales (Birkenbihl *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2015), están involucrados en el

Tabla 2. Cultivos de origen neotropical modificados genéticamente con la sobreexpresión o silenciamiento de factores de transcripción (FT) para la regulación de genes relacionados con tolerancia a estrés abiótico.

Gen de interés	Planta transformada (mecanismo)	Recurso génico	Familia de FT	Tolerancia aumentada (+) o disminuida (-)	Referencia
GbMYB5	<i>Gossypium barbadense</i> (sobreexpresión)	<i>G. barbadense</i>	MYB	Sequía (+)	Chen et al. (2015)
GhMYB108-like	<i>Gossypium hirsutum</i>	<i>G. hirsutum</i>	MYB	Salinidad y sequía	Ullah et al. (2020)
LeAN2	Tomate (sobreexpresión)	Tomate	MYB	Calor (+)	Meng et al. (2015)
OsmYb4	Papa (sobreexpresión)	Arroz	MYB	Salinidad (+)	Aydin et al. (2014)
OsmMYB55	Maíz (sobreexpresión)	Arroz	MYB	Sequía (+) y calor (+)	Casaretto et al. (2016)
StMYBIR-1	Papa (sobreexpresión)	Papa	MYB	Sequía (+)	Shin et al. (2011)
MuWRKY3	Maní (sobreexpresión)	<i>Macrotyloma uniflorum</i>	WRKY	Sequía (+)	Kiranmai et al. (2018)
SlWRKY8	Tomate (sobreexpresión)	Tomate	WRKY	Salinidad (+), sequía (+) y contra <i>Pseudomonas syringae</i> pv. tomato DC3000 (+)	Gao et al. (2020)
SlWRKY39	Tomate (sobreexpresión)	Tomate	WRKY	Salinidad (+), sequía (+) y contra <i>P. syringae</i> pv. tomato DC3000 (+)	Sun et al. (2015)
CaNAC035	<i>C. annuum</i> (silenciamiento)	<i>C. annuum</i>	NAC	Frío (-), salinidad (-) y sequía (-)	Zhang et al. (2020)
GhNAC2	<i>G. hirsutum</i> (sobreexpresión)	<i>Gossypium herbaceum</i>	NAC	Sequía (+)	Gunapati et al. (2016)
GhNAC79	<i>G. hirsutum</i> (sobreexpresión)	<i>G. hirsutum</i>	NAC	Sequía (+)	Guo et al. (2017)
ZmNAC111	Maíz (sobreexpresión)	Maíz	NAC	Sequía (+)	Mao et al. (2015)
AtJUB1	Tomate (sobreexpresión)	<i>A. thaliana</i>	NAC	Sequía (+)	Thirumalaikumar et al. (2018)
SjJUB1	Tomate (silenciamiento)	Tomate	NAC	Sequía (-)	Thirumalaikumar et al. (2018)
StNAC2	Papa (sobreexpresión)	Papa	NAC	Salinidad (+) y sequía (+)	Xu et al. (2014)
GhABF2	Algodón (sobreexpresión)	Algodón	bZIP	Salinidad (+) y sequía (+)	Liang et al. (2016)
ABF4	Papa (sobreexpresión)	<i>Arabidopsis</i>	bZIP	Salinidad (+) y sequía (+)	Muñiz García et al. (2018)
CaBZ1	Papa (sobreexpresión)	<i>Capsicum annuum</i>	bZIP	Sequía (+)	Moon et al. (2015)
CaBZIP25	<i>C. annuum</i> (silenciamiento)	<i>C. annuum</i>	bZIP	Salinidad (-)	Gai et al. (2020)
ABP9	Algodón (sobreexpresión)	Maíz	bZIP	Salinidad (+), sequía (+) y estrés oxidativo (+)	Wang et al. (2017a)
AtABF3	Algodón (sobreexpresión)	<i>A. thaliana</i>	bZIP	Sequía (+)	Kerr et al. (2018)
GhABF2D	Algodón (sobreexpresión)	Algodón	bZIP	Sequía (+)	Kerr et al. (2018)
MeABL5	Yuca (sobreexpresión)	Yuca	bZIP	Sequía (+) y calor (+)	Liu et al. (2019)
AtDREB1A	Tomate (sobreexpresión)	<i>A. thaliana</i>	DREB	Frío (+)	Shah et al. (2015)
AtDREB1A	Maní (sobreexpresión)	<i>A. thaliana</i>	DREB	Sequía (+) y salinidad (+)	Sarkar et al. (2014), Sarkar et al. (2016)
AtDREB1A	Maní (sobreexpresión)	<i>A. thaliana</i>	DREB	Sequía (+)	Bhalani et al. (2019)
StDREB2	<i>G. barbadense</i> (sobreexpresión)	Papa	DREB	Sequía (+)	El-Esawi y Alayafi (2019)
TsCBF1	Maíz (sobreexpresión)	<i>Thellungiella halophila</i>	DREB,CBF	Sequía (+)	Zhang et al. (2010)
IbCBF3	Camote (sobreexpresión)	Camote	DREB,CBF	Frío (+), sequía (+) y estrés oxidativo (+)	Jin et al. (2017)
CaRma1H1	Tomate (sobreexpresión)	<i>C. annuum</i>	RING E3 Ub ligasa*	Sequía (+)	Seo et al. (2012)

ABP9: codifica para proteína de unión a elementos de respuesta a ABA (ABRE por sus siglas en inglés) de *Zea mays*, ABF4: factor de unión ABRE 4, AtABF3: elemento de respuesta al ABA del factor 3 de *A. thaliana*, AtDREB1A: FT DREB1A de *A. thaliana*, AtJUB1: FT NAC JUNGBRUNNEN1 de *A. thaliana*, CaBZ1: FT codificado por el grupo SbZIP

... Continúa

de *C. annuum*, CabZIP25: FT bZIP 25 de *C. annuum*, CaNAC035: FT NAC 35 de *C. annuum*, CaRma1H1: codifica para proteína que contiene un dominio de unión al anillo de *C. annuum*, GbMYB5: Clon T-h7124-5 MYB5 de *G. barbadense*, GhABF2: FT bZIP del grupo A de *G. hirsutum*, GhABF2D: FT bZIP AREB/ABF de *G. hirsutum* ortólogo a AtABF3, GhMYB108-like: FT MYB108 de *G. hirsutum* similar al MYB2 de *A. thaliana*, GhNAC2: proteína NAC2 de *G. hirsutum*, GhNAC79: FT NAC 79 de *G. hirsutum*, IbCBF3: factor de unión 1 a repetición C/DRE de *I. batatas*, LeAN2: FT MYB75 de *S. lycopersicum*, MeABL5: FT similar al ABA insensible 5 de *Manihot esculenta*, MuWRKY3: FT WRKY3 de *M. uniflorum*, Osmyb4: FT MYB4 de *Oryza sativa*, OsMYB55: FT MYB55 de *Oryza sativa*, SJJUB1: FT NAC JUNGBRUNNEN11 de *S. lycopersicum*, SIWRKY8: FT WRKY 8 de *S. lycopersicum*, SIWRKY39: gen homólogo al AtWRKY40, StDREB2: FT DREB2 de *S. tuberosum*, StMYBIR-1: FT MYB1R1 de *S. tuberosum*, StNAC2: FT NAC2 de *S. tuberosum*, TsCBF1: factor de unión 1 a repetición C/DRE de *T. halophila*, ZmNAC111: proteína de la superfamilia del FT NAC de *Z. mays*. *Nuevos genes realmente interesantes (RING, por sus siglas en inglés), que contienen un dominio ubiquitina (Ub) E3 ligasa.

desarrollo de semillas, elongación de brotes (Zhang et al., 2011a), tricomas (Verweij et al., 2016) y raíces laterales (Ding et al., 2015), en la síntesis de carbohidratos (Sun et al., 2003) y en la senescencia (Robatzek y Somsich, 2001). Información reciente sobre esta familia de genes se puede encontrar en Bai et al. (2018).

En cultivos de origen neotropical se ha sobreexpresado el FT SIWRKY39 en plantas de tomate. Se encontró que, además de conferir una mayor tolerancia a factores abióticos, también incrementa la tolerancia biótica a la bacteria *Pseudomonas syringae* pv. tomate DC3000, evidenciado por menor crecimiento bacteriano y reducción en los síntomas de la enfermedad en las plantas GM. Con respecto al estrés abiótico, las plantas GM cultivadas bajo estrés salino e hídrico presentaron una menor afectación con respecto a las plantas no GM; inclusive, las plantas GM mantenidas en sequía lograron recuperarse luego de la rehidratación, mientras que las plantas silvestres murieron. También, las plantas GM presentaron una regulación positiva en genes relacionados con la patogénesis (SIPR1 y SIPR1a1) y estrés ambiental (SIDREB2A y SIRD22); sin embargo, estos resultados no fueron suficientes para explicar el mecanismo de acción de las tolerancias adquiridas (Sun et al., 2015).

NAC

Las proteínas NAC son FT específicos de las plantas. El dominio NAC tiene una longitud de aproximadamente 150 aminoácidos y tiene cinco regiones conservadas. Estas proteínas cumplen funciones importantes en el desarrollo de la planta y en respuesta al estrés, tanto biótico como abiótico (Nakashima et al., 2012). Con el fin de determinar el funcionamiento de distintos NAC, se han modificado cultivos de origen neotropical para silenciar estos FT mediante elementos transponibles con repetición invertida miniatura (MITE, por sus siglas en

inglés) (Mao et al., 2015) y silenciamiento inducido por virus (VIGS, por sus siglas en inglés) (Thirumalaikumar et al., 2018); también se ha evaluado su funcionamiento mediante la sobreexpresión del gen NAC (Gunapati et al., 2016). En estas investigaciones, además de determinar el efecto del FT en el cultivo de origen neotropical, también se corroboró si en plantas modelo, como *Arabidopsis*, se obtenían resultados similares (Gunapati et al., 2016; Mao et al., 2015; Thirumalaikumar et al., 2018).

Al silenciar los genes *ZmNAC111* y *SJJUB1* mediante MITE y VIGS, respectivamente, se encontró que ambos FT cumplen un rol en la tolerancia a la sequía (Mao et al., 2015; Thirumalaikumar et al., 2018). Al estar el gen *ZmNAC111* silenciado en maíz se determinó que bajo riego normal la expresión de este FT fue cercana a cero; sin embargo, en condiciones de sequía moderada y severa hubo una menor expresión relativa de este FT en las plantas silenciadas, con respecto a las plantas no GM (Mao et al., 2015). El silenciamiento del gen *SJJUB1* en tomate provocó una mayor pérdida de electrolitos y aumento en la concentración de H₂O₂ y, por consecuencia, mayor daño de las membranas. A nivel genético, se encontró una reducción en la expresión de los genes *SIDREB1*, *SIDREB2* y *SIDELLA* (Thirumalaikumar et al., 2018).

La sobreexpresión de *ZmNAC111* en maíz, *GhNAC2* en algodón y en *Arabidopsis*, y *AtJUB1*, gen ortólogo de *SJJUB1*, en *Arabidopsis* generó cambios a nivel epigenético y fisiológico al someter las plantas a condiciones de sequía (Gunapati et al., 2016; Mao et al., 2015; Thirumalaikumar et al., 2018). A nivel epigenético, se generaron cambios positivos y negativos en la regulación de genes implicados en la respuesta a estrés abiótico, de respuesta a cambios oxidativos, giberelinas (Mao et al., 2015), rutas de biosíntesis de etileno, ABA y ácido jasmónico

(JA, por sus siglas en inglés) (Gunapati *et al.*, 2016). Por su parte, se determinó que tanto *AtJUB1* como *SlJUB1* son regulados positivamente y se unen al motivo de unión JUB1 en los promotores de los genes *SIDREB1*, *SIDREB2* y *SIDELLA* en condiciones de sequía. Estos genes son de respuesta a estrés y podrían explicar el mecanismo de acción de la tolerancia adquirida (Thirumalaikumar *et al.*, 2018).

A nivel fisiológico, en maíz el FT provocó un uso más eficiente del agua en condiciones de sequía, sin provocar cambios morfológicos negativos (Mao *et al.*, 2015). En el caso de *Arabidopsis*, el gen *AtJUB1* provocó un aumento en el contenido de agua luego de 14-21 días de estar en sequía, menor contenido de malondialdehído (MDA) y aumento en la concentración de enzimas antioxidantes, con respecto a las plantas no GM (Thirumalaikumar *et al.*, 2018), mientras que el *GhNAC2* generó una menor pérdida de agua y mayor control de la transpiración (Gunapati *et al.*, 2016). Morfológicamente, la sobreexpresión del FT *GhNAC2* incrementó la longitud de las raíces, tanto en condiciones de sequía como de riego. Adicionalmente, las plantas GM de *Arabidopsis* presentaron un mayor crecimiento vegetativo y hojas más grandes (Gunapati *et al.*, 2016).

Recientemente, se identificaron en cacao (*Theobroma cacao*) 102 NAC, de los cuales 88 están relacionados con la respuesta a estrés abiótico. Lo anterior se determinó debido a que estos genes poseen elementos de respuesta a estrés mediados por luz, auxinas, giberelinas y heridas. Algunos de estos NAC poseen de cuatro a ocho tipos diferentes de elementos de respuesta a estrés, lo que indica que podrían estar relacionados con la defensa contra más de un tipo de estrés abiótico (Shen *et al.*, 2019). Lo anterior abre una línea de investigación para la mejora genética del cacao para tolerar de mejor manera el cambio climático.

bZIP

Los FT de zipper básico de leucina (bZIP) son proteínas que controlan diferentes procesos biológicos en las plantas. Se han identificado bZIP implicados en diferentes etapas del desarrollo de estos organismos, como por ejemplo durante la regulación de la elongación celular (Fukazawa *et al.*, 2000), el desarrollo vascular (Yin *et al.*, 1997), de semillas (Izawa *et al.*, 1994) y flores (Nan *et al.*, 2014; Strathmann *et al.*, 2001). Adicionalmente, se ha determinado que existen bZIP involucrados en la defensa contra patógenos (Alves *et al.*, 2013) y diferentes tipos de estrés abiótico como salinidad, sequía, frío, rayos ultravioleta B y metales pesados (Banerjee y Roychoudhury, 2017). De los diez grupos de bZIP que se han identificado, se ha determinado que las proteínas

del grupo A están estrechamente relacionadas con la respuesta al estrés abiótico dependiente de ABA (Jakoby *et al.*, 2002).

El ABA es una hormona vegetal de respuesta a estrés, y la planta ajusta sus niveles en respuesta a las condiciones ambientales (Banerjee y Roychoudhury, 2017; Tuteja, 2007). Las señales de estrés abiótico, al ser percibidas por receptores de ABA, llevan a la fosforilación de bZIP por serina treonina quinasa. Una vez activados, los bZIP se unen a los ABRE o a elementos acoplados a zonas ricas en GC en las regiones promotoras de genes de respuesta al estrés para incrementar su expresión y así provocar un aumento en la tolerancia al estrés abiótico (Banerjee y Roychoudhury, 2017). En cultivos de origen neotropical, como el algodón y la papa, se han sobreexpresado este tipo de FT y se ha logrado conferir tolerancia a factores abióticos como sequía, salinidad y estrés oxidativo (Kerr *et al.*, 2018; Liang *et al.*, 2016; Moon *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2017a).

En plantas de algodón se ha trabajado con los FT bZIP *GhABF2* y *ABP9* para generar tolerancia a diferentes factores abióticos. La sobreexpresión de *GhABF2* aumentó la tolerancia a salinidad y sequía. Lo anterior se debe a que este FT controla la respuesta a ambos tipos de estrés abiótico mediando la vía de señalización del ABA. Se encontró que, en condiciones de estrés, se da la expresión diferenciada de 68 genes, entre los cuales se encuentran genes de respuesta a estrés salino, sequía y ABA. La adquisición de tolerancia puede deberse a que las plantas, bajo estos tipos de estrés, deben protegerse en contra de la deshidratación y es conocido el papel del ABA al respecto. Adicionalmente, se incrementó la protección frente al daño por estrés oxidativo que puede ocasionar la salinidad y sequía; esto debido a que aumentó el contenido del osmoprotector prolina y las enzimas catalasa y superóxido dismutasa, involucradas en la eliminación de ROS (Liang *et al.*, 2016).

En cuanto al gen *ABP9*, se determinó que, al igual que para *GhABF2*, su sobreexpresión incrementó la tolerancia a salinidad, sequía y estrés oxidativo. Las plantas GM presentaron un incremento en el contenido de azúcares solubles, prolina y clorofila, que puede explicar la mayor tolerancia a sequía y salinidad. Además, se incrementó la actividad de enzimas antioxidantes, lo que generó una reducción en las ROS y en el contenido de MDA que explica la mayor tolerancia al estrés oxidativo. Por último, las plantas presentaron hipersensibilidad al ABA durante la apertura estomática, lo cual está relacionado con el uso más eficiente del agua en condiciones de sequía (Wang *et al.*, 2017).

Por otra parte, se ha reportado un incremento en la tolerancia a sequía al sobreexpresar los FT bZIP ABF endógenos (*GhABF2D*) y exógenos (*AtABF3*) en algodón, y el *CaBZI* en papa (Kerr *et al.*, 2018; Moon *et al.*, 2015). En las plantas GM de algodón se encontró que, conforme aumentaba la expresión de *AtABF3*, se incrementaba el cierre estomático en respuesta a estrés hídrico, lo cual provocaba la reducción en la transpiración y la productividad fotosintética (Kerr *et al.*, 2018). En las plantas GM de papa en condiciones de sequía o suplementadas con ABA exógeno también se generó una reducción en la pérdida de agua y un cierre estomático más rápido. Aunado a esto, se incrementó la expresión de genes relacionados con la respuesta al estrés y al ABA (Moon *et al.*, 2015). En estos dos ejemplos también se observó la aparición de eventos pleiotrópicos, ya que las plantas GM de algodón redujeron la tasa de crecimiento conforme incrementaba la expresión de *GhABF2D* (Kerr *et al.*, 2018), mientras que en papa las plantas GM incrementaron el rendimiento en la producción de tubérculos (Moon *et al.*, 2015).

DREB

Los FT DREB son una familia de multigenes que pertenecen a la superfamilia APETALA2/factor de respuesta-etileno (AP2/ERF). Estos factores fueron reportados por primera vez en 1998 en *Arabidopsis thaliana* y se pueden dividir en dos subclases, DREB1 y DREB2. Los DREB1 actúan en conjunto con factores de unión C-repetidos (CBF) y unen los elementos *cis*-activos DRE y CRT. Los tres FT DREB1/CBF son claves en la regulación de la expresión génica en respuesta al estrés por baja temperatura; mientras que los DREB2B son altamente inducidos por sequía, alta salinidad y calor [revisado por Wang *et al.* (2003), Hu y Xiong (2014), Todaka *et al.* (2015), Liao *et al.* (2017)].

La sobreexpresión de *TsCBF1* en maíz generó un incremento en la tolerancia a la sequía. Dicha modificación causó un aumento en el contenido de prolina y azúcares solubles en las plantas GM con respecto a las plantas no GM, lo cual coincidió con mayor tolerancia adquirida al estrés osmótico. Genéticamente, la acumulación de prolina se ve explicada por un incremento en los niveles de la enzima prolina sintetasa. Un dato importante para destacar es que las plantas GM mostraron un incremento en el rendimiento de producción de granos bajo condiciones de sequía. Si bien solamente se analizó la tolerancia a la sequía, esta modificación podría generar tolerancia a otros tipos de estrés abiótico que deben de ser investigados (Zhang *et al.*, 2010).

Cultivos de origen neotropical, como el maíz y el algodón, han servido de fuente génica para estudiar el fun-

cionamiento de DREBs en otras especies vegetales, como trigo, *Nicotiana* y *Arabidopsis* (Gao *et al.*, 2009; Shan *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2011; Zhou *et al.*, 2016). De maíz se aislaron los FT *ZmDBP4K*, que es inducido por sequía, y *ZmDBF3*, inducido por sequía, salinidad, altas y bajas temperaturas. En las plantas GM obtenidas se logró generar tolerancia a todos los factores abióticos mencionados anteriormente, con excepción de las altas temperaturas (Wang *et al.*, 2011; Zhou *et al.*, 2016). Con respecto al algodón, se aisló los genes inducidos por frío y alta salinidad *GhDREB1* y *GhDREB2*; este último inducido también por sequía (Gao *et al.*, 2009; Shan *et al.*, 2007). En el caso de *GhDREB1*, las plantas GM únicamente presentaron mayor tolerancia al frío, además de retraso en el crecimiento y floración al cultivarlas en condiciones normales, en comparación con el tipo silvestre no GM (Shan *et al.*, 2007). Por su parte, las plantas que sobreexpresaban el FT *GhDREB2* mostraron tolerancia a los mismos tres factores abióticos que el algodón, sin mostrar efectos pleiotrópicos negativos (Gao *et al.*, 2009).

Edición génica en cultivos de origen neotropical

La edición génica ha tomado fuerza durante la última década. Esta técnica se basa en el uso de nucleasas que inducen ruptura de la doble cadena (DSB, por sus siglas en inglés) de ADN en sitios específicos del genoma, y permite manipular prácticamente cualquier gen al generar deleciones, inserciones o cambios en las secuencias de ADN. Las primeras aproximaciones desarrolladas se basaban en el uso de sistemas de proteínas con afinidades específicas al ADN, como por ejemplo las nucleasas con dedos de zinc (ZFNs, por sus siglas en inglés) y nucleasas efectoras tipo activador de transcripción (TALENs, por sus siglas en inglés) (Gaj *et al.*, 2013; Sander y Joung, 2014; Tang y Tang, 2017).

La metodología que ha tomado mayor relevancia en la actualidad es el sistema CRISPR/Cas9 para la edición génica. Por este medio se pueden alterar genes específicos, ya sea mediante la edición permanente o su regulación temporal. Este método, a diferencia de las ZFN y TALENs, permite tener más de una secuencia objetivo al coexpresar la proteína Cas9 con múltiples ARN guía (ARNg) de forma simultánea (Sternberg y Doudna, 2015). Mediante la edición génica es teóricamente posible realizar cambios tendientes a mejorar rendimiento y calidad de los cultivos, así como también incrementar la resistencia a enfermedades y virus en los mismos (Gaj *et al.*, 2013; Sander y Joung, 2014; Tang y Tang, 2017).

En plantas de maíz se realizó la edición del gen endógeno *ARGOS8* mediante CRISPR/Cas9 para generar nuevas variantes. El gen *ARGOS8* regula negativamente

la respuesta al etileno y se ha visto que su sobreexpresión incrementa el rendimiento en cuanto a producción de granos en condiciones de sequía (Shi *et al.*, 2015, 2017). Para crear las nuevas variantes, el promotor GOS2 del maíz se usó para reemplazar el promotor nativo de *ARGOS8*, o para ser insertado en la región 5' no traducida de *ARGOS8*. Al llevar las plantas editadas al campo se encontró mayor rendimiento en la producción de granos bajo condiciones de sequía, en comparación con las plantas no GM. Lo anterior demuestra que la edición de genes endógenos es una alternativa para crear variantes con características agronómicas importantes, como lo son el rendimiento de la producción y tolerancia al estrés abiótico (Shi *et al.*, 2017).

El CRISPR/Cas9 no solamente tiene potencial para generar nuevas variantes genéticas en los cultivos (Shi *et al.*, 2017), sino que también permite comprender el funcionamiento de genes. En plantas de tomate se silenció el gen nativo inducible por sequía *SIMAPK3*. Luego de un período de estrés hídrico, las plantas editadas presentaron una menor actividad de enzimas antioxidantes, niveles más altos de peróxido y mayor cantidad de daños en membranas, así como también, visiblemente se observó un mayor marchitamiento, con respecto a las plantas silvestres. Genéticamente, las plantas silenciadas presentaron regulación negativa y positiva de distintos genes de respuesta a estrés por sequía. Con los resultados obtenidos, gracias a la generación de plantas editadas mediante CRISPR/Cas9, se pudo esclarecer el mecanismo por el cual este gen genera tolerancia a sequía. En condiciones de sequía, el gen *SIMAPK3* se encarga de modular la transcripción de genes relacionados con la respuesta al estrés y además de proteger las membranas celulares del daño oxidativo (Wang *et al.*, 2017b).

En la misma línea de investigación, Li *et al.* (2019) editaron el gen *SINPR* en plantas de tomate para determinar si este cumple alguna función en la respuesta a estrés abiótico. Las plantas editadas presentaron una mayor sensibilidad a sequía relacionada con una mayor apertura estomática, contenido de MDA, pérdida de electrolitos y menor actividad de enzimas antioxidantes. Además, se detectó en las plantas editadas una disminución en la expresión de genes implicados en la respuesta al estrés (*SIDREB*, *SIGST* y *SIDHN*), lo que sugiere que el *SINPR* podría estar involucrado en la modulación de su expresión.

CONCLUSIONES

Los diferentes tipos de estrés abiótico, que afectan con frecuencia los agroecosistemas, pueden incrementar en los próximos años con los efectos del cambio climático

antropogénico. Para contrarrestar las pérdidas que pueden causar factores abióticos, como sequía, salinidad y cambios en la temperatura, se han implementado técnicas biotecnológicas para conferir tolerancia a estos tipos de estrés. Mediante la transformación genética y edición génica se ha logrado conferir tolerancia en cultivos de origen neotropical con importancia económica a uno o más tipos de estrés ambiental.

Lo anterior ha sido posible debido a la identificación y caracterización de genes que están involucrados en la respuesta al estrés, producción de osmolitos y diversos FT. Sin embargo, la mayor parte de las investigaciones revisadas se limitan a realizar experimentos en el laboratorio con plantas *in vitro* o en invernadero, por lo tanto, es necesario continuar investigando para determinar cuál va a ser el comportamiento de la planta transgénica o editada genéticamente en un escenario real, el campo, cuando no solamente tenga que lidiar con la sequía, sino también con el resto de factores abióticos y bióticos que la pueden afectar, para determinar si la respuesta se mantiene. A futuro, valdría la pena realizar experimentos de campo con plantas modificadas o editadas genéticamente en zonas afectadas por diferentes factores abióticos de países en los cuales se producen masivamente cultivos de origen neotropical. Por ejemplo, resultaría interesante cultivar en la faja maicera de Estados Unidos líneas de maíz que sobreexpresen *TsCBF1*, *OsMYB55* o *betA* con el fin de determinar su tolerancia a condiciones extremas.

Por otra parte, valdría la pena modificar los cultivos para que posean más de una estrategia para tolerar el estrés abiótico. Para proteger el tomate de la salinidad y sequía se podría sobreexpresar *codA* y *SIWRKY39*. De esta manera se incrementaría la síntesis de GB para generar un efecto osmoprotector y el FT de tipo WRKY desencadenaría una cadena de respuesta para la protección de la planta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmad, R., Kim, M. D., Back, K.-H., Kim, H.-S., Lee, H.-S., Kwon, S.-Y., Murata, N., Chung, W.-I., & Kwak, S.-S. (2008). Stress-induced expression of choline oxidase in potato plant chloroplasts confers enhanced tolerance to oxidative, salt, and drought stresses. *Plant Cell Reports*, 27(4), 687-698. <https://doi.org/10.1007/s00299-007-0479-4>.
- Alves, M. S., Dadalto, S. P., Gonçalves, A. B., De Souza, G. B., Barros, V. A., & Fietto, L. G. (2013). Plant bZIP transcription factors responsive to pathogens: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 14

- (4), 7815-7828. <https://doi.org/10.3390/ijms14047815>.
- Antonelli, A., & Sanmartín, I. (2011). Why are there so many plant species in the Neotropics? *Taxon*, 60(2), 403-414. <https://doi.org/10.1002/tax.602010>.
- Ashraf, M. (2010). Inducing drought tolerance in plants: Recent advances. *Biotechnology Advances*, 28(1), 169-183. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.11.005>.
- Aydin, G., Yucel, M., Chan, M.-T., & Oktem, H. A. (2014). Evaluation of abiotic stress tolerance and physiological characteristics of potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Kennebec) that heterologously expresses the rice *Osmyb4* gene. *Plant Biotechnology Reports*, 8(3), 295-304. <https://doi.org/10.1007/s11816-014-0322-7>.
- Bai, Y., Sunarti, S., Kissoudis, C., Visser, R. G. F., & van der Linden, C. G. (2018). The role of tomato *WRKY* genes in plant responses to combined abiotic and biotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, 9, 801. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00801>.
- Banerjee, A., & Roychoudhury, A. (2017). Abscisic-acid-dependent basic leucine zipper (bZIP) transcription factors in plant abiotic stress. *Protoplasma*, 254(1), 3-16. <https://doi.org/10.1007/s00709-015-0920-4>.
- Bernal, R., Torres, C., García, N., Isaza, C., Navarro, J., Vallejo, M. I., Galeano, G., & Balslev, H. (2011). Palm management in South America. *The Botanical Review*, 77(4), 607-646. <https://doi.org/10.1007/s12229-011-9088-6>.
- Bhalani, H., Thankappan, R., Mishra, G. P., Sarkar, T., Bosamia, T. C., & Dobaría, J. R. (2019). Regulation of antioxidant mechanisms by *AtDREB1A* improves soil-moisture deficit stress tolerance in transgenic peanut (*Arachis hypogaea* L.). *PLoS ONE*, 14(5), e0216706. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216706>.
- Bhatnagar-Mathur, P., Vadez, V., & Sharma, K. K. (2008). Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in plants: Retrospect and prospects. *Plant Cell Reports*, 27(3), 411-424. <https://doi.org/10.1007/s00299-007-0474-9>.
- Bhauso, T. D., Thankappan, R., Kumar, A., Mishra, G. P., Dobaría, J. R., & Rajam, M. (2014). Over-expression of bacterial *mtlD* gene confers enhanced tolerance to salt-stress and water-deficit stress in transgenic peanut (*Arachis hypogaea*) through accumulation of mannitol. *Australian Journal of Crop Science*, 8(3), 413-421.
- Birkenbihl, R. P., Diezel, C., & Somssich, I. E. (2012). Arabidopsis *WRKY33* is a key transcriptional regulator of hormonal and metabolic responses toward *Botrytis cinerea* infection. *Plant Physiology*, 159(1), 266-285. <https://doi.org/10.1104/pp.111.192641>.
- Bisognin, D. A. (2002). Origin and evolution of cultivated cucurbits. *Ciência Rural*, 32(4), 715-723. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782002000400028>.
- Cabello, J. V., Lodeyro, A. F., & Zurbriggen, M. D. (2014). Novel perspectives for the engineering of abiotic stress tolerance in plants. *Current Opinion in Biotechnology*, 26, 62-70. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.09.011>.
- Casaretto, J. A., El-kereamy, A., Zeng, B., Stiegelmeier, S. M., Chen, X., Bi, Y.-M., & Rothstein, S. J. (2016). Expression of *OsMYB55* in maize activates stress-responsive genes and enhances heat and drought tolerance. *BMC Genomics*, 17(1), 312. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2659-5>.
- Chattopadhyay, N. (2010). Climate Change and Food Security in India. En R. Lal, M. V. K. Sivakumar, S. M. A. Faiz, A. H. M. Mustafizur Rahman, & K. R. Islam (Eds.), *Climate Change and Food Security in South Asia* (pp. 229-250). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-90-481-9516-9_15.
- Chaudhary, A., & Chaudhary, S. (2014). Quality improvement in plants through induced mutations. En N. B. Tomlekova, M. I. Kozgar, & M. R. Wani (Eds.), *Mutagenesis: Exploring genetic diversity of crops* (pp. 233-252). Wageningen Academic Publishers. https://doi.org/10.3920/978-90-8686-796-7_11.
- Chen, S., Chen, X., & Xu, J. (2016). Impacts of climate change on agriculture: Evidence from China. *Journal of Environmental Economics and Management*, 76, 105-124. <https://doi.org/10.1016/j.jeem.2015.01.005>.
- Chen, T., Li, W., Hu, X., Guo, J., Liu, A., & Zhang, B. (2015). A cotton MYB transcription factor, *GbMYB5*, is positively involved in plant adaptive response to drought stress. *Plant and Cell Physiology*, 56(5), 917-929. <https://doi.org/10.1093/pccp/pcv019>.
- Cortina, C., & Culiáñez-Macià, F. A. (2005). Tomato abiotic stress enhanced tolerance by trehalose biosynthesis. *Plant Science*, 169(1), 75-82. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.02.026>.
- Di, H., Tian, Y., Zu, H., Meng, X., Zeng, X., & Wang, Z. (2015). Enhanced salinity tolerance in transgenic maize plants expressing a *BADH* gene from *Atriplex micrantha*. *Euphytica*, 206(3), 775-783. <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1515-z>.
- Ding, Z. J., Yan, J. Y., Li, C. X., Li, G. X., Wu, Y. R., & Zheng, S. J. (2015). Transcription factor *WRKY46* modulates the development of Arabidopsis lateral roots in osmotic/salt stress conditions via regulation of ABA signaling and auxin homeostasis. *The Plant Journal*, 84(1), 56-69. <https://doi.org/10.1111/tpj.12958>.
- Ding, Z., Li, S., An, X., Liu, X., Qin, H., & Wang, D. (2009). Transgenic expression of *MYB15* confers en-

- hanced sensitivity to abscisic acid and improved drought tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Genetics and Genomics*, 36(1), 17-29. [https://doi.org/10.1016/S1673-8527\(09\)60003-5](https://doi.org/10.1016/S1673-8527(09)60003-5).
- Dong, C. -l., Zhang, M. -y., Zhang, Y. -q., Yang, L. -l., Liang, G. -m., Sun, J., Lin, Z. -p., & Gou, J. -f. (2011). Transformation of trehalose synthase gene (*TPS* Gene) into corn inbred line and identification of drought tolerance. *African Journal of Biotechnology*, 10(68), 15253-15258. <https://doi.org/10.5897/AJB11.1651>.
- El-Esawi, M., & Alayafi, A. (2019). Overexpression of *StDREB2* transcription factor enhances drought stress tolerance in cotton (*Gossypium barbadense* L.). *Genes*, 10(2), 142. <https://doi.org/10.3390/genes10020142>.
- Eulgem, T., Rushton, P. J., Robatzek, S., & Somssich, I. E. (2000). The WRKY superfamily of plant transcription factors. *Trends in Plant Science*, 5(5), 199-206. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01600-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01600-9).
- Fang, Y., & Xiong, L. (2015). General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 72(4), 673-689. <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1767-0>.
- FAO. (2016). *Crops Statistics*. FAOSTAT. www.fao.org/faostat/en/#data.
- Farooq, M., Hussain, M., Wahid, A., & Siddique, K. H. M. (2012). Drought Stress in Plants: An Overview. En R. Aroca (Ed.), *Plant Responses to Drought Stress* (pp. 1-33). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-32653-0_1.
- Fernandez, O., Béthencourt, L., Quero, A., Sangwan, R. S., & Clément, C. (2010). Trehalose and plant stress responses: Friend or foe? *Trends in Plant Science*, 15(7), 409-417. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.04.004>.
- Fukazawa, J., Sakai, T., Ishida, S., Yamaguchi, I., Kamiya, Y., & Takahashi, Y. (2000). REPRESSION OF SHOOT GROWTH, a bZIP transcriptional activator, regulates cell elongation by controlling the level of gibberellins. *The Plant Cell*, 12, 901-915. <https://doi.org/10.1105/tpc.12.6.901>.
- Gai, W.-X., Ma, X., Qiao, Y.-M., Shi, B.-H., ul Haq, S., Li, Q.-H., Wei, A.-M., Liu, K.-K., & Gong, Z.-H. (2020). Characterization of the bZIP transcription factor family in pepper (*Capsicum annuum* L.): *CabZIP25* positively modulates the salt tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 11, 139. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00139>.
- Gaj, T., Gersbach, C. A., & Barbas, C. F. (2013). ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends in Biotechnology*, 31(7), 397-405. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.04.004>
- Gao, S.-Q., Chen, M., Xia, L.-Q., Xiu, H.-J., Xu, Z.-S., Li, L.-C., Zhao, C.-P., Cheng, X.-G., & Ma, Y.-Z. (2009). A cotton (*Gossypium hirsutum*) DRE-binding transcription factor gene, *GhDREB*, confers enhanced tolerance to drought, high salt, and freezing stresses in transgenic wheat. *Plant Cell Reports*, 28(2), 301-311. <https://doi.org/10.1007/s00299-008-0623-9>.
- Gao, Y., Liu, J., Yang, F., Zhang, G., Wang, D., Zhang, L., Ou, Y., & Yao, Y. (2020). The WRKY transcription factor WRKY8 promotes resistance to pathogen infection and mediates drought and salt stress tolerance in *Solanum lycopersicum*. *Physiologia Plantarum*, 168(1), 98-117. <https://doi.org/10.1111/ppl.12978>.
- Goel, D., Singh, A. K., Yadav, V., Babbar, S. B., Murata, N., & Bansal, K. C. (2011). Transformation of tomato with a bacterial *codA* gene enhances tolerance to salt and water stresses. *Journal of Plant Physiology*, 168(11), 1286-1294. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.01.010>.
- Gunapati, S., Naresh, R., Ranjan, S., Nigam, D., Hans, A., Verma, P. C., Gadre, R., Pathre, U. V., Sane, A. P., & Sane, V. A. (2016). Expression of *GhNAC2* from *C. herbaceum*, improves root growth and imparts tolerance to drought in transgenic cotton and Arabidopsis. *Scientific Reports*, 6(1), 24978. <https://doi.org/10.1038/srep24978>.
- Guo, Y., Pang, C., Jia, X., Ma, Q., Dou, L., Zhao, F., Gu, L., Wei, H., Wang, H., Fan, S., Su, J., & Yu, S. (2017). An NAM domain gene, *GhNAC79*, improves resistance to drought stress in upland cotton. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1657. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01657>.
- Hadiarto, T., & Tran, L.-S. P. (2011). Progress studies of drought-responsive genes in rice. *Plant Cell Reports*, 30(3), 297-310. <https://doi.org/10.1007/s00299-010-0956-z>.
- He, C., He, Y., Liu, Q., Liu, T., Liu, C., Wang, L., & Zhang, J. (2013). Co-expression of genes *ApGSMT2* and *ApDMT2* for glycinebetaine synthesis in maize enhances the drought tolerance of plants. *Molecular Breeding*, 31(3), 559-573. <https://doi.org/10.1007/s11032-012-9815-7>.
- Hmida-Sayari, A., Gargouri-Bouzid, R., Bidani, A., Jaoua, L., Savouré, A., & Jaoua, S. (2005). Overexpression of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers salt tolerance in transgenic potato plants. *Plant Science*, 169(4), 746-752. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2005.05.025>.
- Hu, H., & Xiong, L. (2014). Genetic engineering and breeding of drought-resistant crops. *Annual Review of Plant Biology*, 65(1), 715-741. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-040000>.
- Hussain, S. S., Kayani, M. A., & Amjad, M. (2011). Transcription factors as tools to engineer enhanced

- drought stress tolerance in plants. *Biotechnology Progress*, 27(2), 297-306. <https://doi.org/10.1002/btpr.514>.
- Izawa, T., Foster, R., Nakajima, M., Shimamoto, K., & Chua, N.-H. (1994). The rice bZIP transcriptional activator RITA-1 is highly expressed during seed development. *The Plant Cell*, 6, 1277-1287. <https://doi.org/10.1105/tpc.6.9.1277>.
- Jakoby, M., Weisshaar, B., Dröge-Laser, W., Vicente-Carbajosa, J., Tiedemann, J., Kroj, T., & Parcy, F. (2002). BZIP transcription factors in *Arabidopsis*. *Trends in Plant Science*, 7(3), 106-111. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(01\)02223-3](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(01)02223-3).
- Jia, G.-X., Zhu, Z.-Q., Chang, F.-Q., & Li, Y.-X. (2002). Transformation of tomato with the *BADH* gene from *Atriplex* improves salt tolerance. *Plant Cell Reports*, 21(2), 141-146. <https://doi.org/10.1007/s00299-002-0489-1>.
- Jiang, J., Ma, S., Ye, N., Jiang, M., Cao, J., & Zhang, J. (2017). WRKY transcription factors in plant responses to stresses. *Journal of Integrative Plant Biology*, 59(2), 86-101. <https://doi.org/10.1111/jipb.12513>.
- Jin, R., Kim, B. H., Ji, C. Y., Kim, H. S., Li, H. M., Ma, D. F., & Kwak, S.-S. (2017). Overexpressing *IbCBF3* increases low temperature and drought stress tolerance in transgenic sweetpotato. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118, 45-54. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.06.002>.
- Joshi, R., Gupta, B. K., Pareek, A., Singh, M. B., & Singla-Pareek, S. L. (2019). Functional Genomics Approach Towards Dissecting Out Abiotic Stress Tolerance Trait in Plants. En V. R. Rajpal, D. Sehgal, A. Kumar, & S. N. Raina (Eds.), *Genetic Enhancement of Crops for Tolerance to Abiotic Stress: Mechanisms and Approaches* (Vol. 1, pp. 1-24). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-91956-0_1.
- Jung, C., Seo, J. S., Han, S. W., Koo, Y. J., Kim, C. H., Song, S. I., Nahm, B. H., Choi, Y. D., & Cheong, J.-J. (2008). Overexpression of *AtMYB44* enhances stomatal closure to confer abiotic stress tolerance in transgenic *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 146(2), 623-635. <https://doi.org/10.1104/pp.107.110981>.
- Kerr, T. C. C., Abdel-Mageed, H., Aleman, L., Lee, J., Payton, P., Cryer, D., & Allen, R. D. (2018). Ectopic expression of two *AREB/ABF* orthologs increases drought tolerance in cotton (*Gossypium hirsutum*). *Plant, Cell & Environment*, 41(5), 898-907. <https://doi.org/10.1111/pce.12906>.
- Khare, N., Goyary, D., Singh, N. K., Shah, P., Rathore, M., Anandhan, S., Sharma, D., Arif, M., & Ahmed, Z. (2010). Transgenic tomato cv. Pusa Uphar expressing a bacterial mannitol-1-phosphate dehydrogenase gene confers abiotic stress tolerance. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 103(2), 267-277. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9776-7>.
- Khoury, C. K., Achicanoy, H. A., Bjorkman, A. D., Navarro-Racines, C., Guarino, L., Flores-Palacios, X., Engels, J. M. M., Wiersema, J. H., Dempewolf, H., Sotelo, S., Ramírez-Villegas, J., Castañeda-Álvarez, N. P., Fowler, C., Jarvis, A., Rieseberg, L. H., & Struik, P. C. (2016). Origins of food crops connect countries worldwide. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1832), 20160792. <https://doi.org/10.1098/rspb.2016.0792>.
- Kiranmai, K., Lokanadha Rao, G., Pandurangaiah, M., Nareshkumar, A., Amaranatha Reddy, V., Lokesh, U., Venkatesh, B., Anthony Johnson, A. M., & Sudhakar, C. (2018). A novel WRKY transcription factor, *MuWRKY3* (*Macrotyloma uniflorum* Lam. Verdc.) enhances drought stress tolerance in transgenic groundnut (*Arachis hypogaea* L.) plants. *Frontiers in Plant Science*, 9, 346. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00346>.
- Kondrák, M., Marincs, F., Antal, F., Juhász, Z., & Bánfalvi, Z. (2012). Effects of yeast trehalose-6-phosphate synthase 1 on gene expression and carbohydrate contents of potato leaves under drought stress conditions. *BMC Plant Biology*, 12(1), 74. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-74>.
- Kondrák, M., Marincs, F., Kalapos, B., Juhász, Z., & Bánfalvi, Z. (2011). Transcriptome analysis of potato leaves expressing the *trehalose-6-phosphate synthase 1* gene of yeast. *PLoS ONE*, 6(8), e23466. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023466>.
- Kumar, A., Singh, V. K., Tripathi, V., Singh, P. P., & Singh, A. K. (2018). Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR): Perspective in Agriculture Under Biotic and Abiotic Stress. En R. Prasad, S. S. Gill, & N. Tuteja (Eds.), *Crop Improvement Through Microbial Biotechnology* (pp. 333-342). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63987-5.00016-5>.
- Leng, G., Tang, Q., & Rayburg, S. (2015). Climate change impacts on meteorological, agricultural and hydrological droughts in China. *Global and Planetary Change*, 126, 23-34. <https://doi.org/10.1016/j.gloplacha.2015.01.003>.
- Lewis, D. H., & Smith, D. C. (1967). Sugar alcohols (polyols) in fungi and green plants. I. Distribution, physiology and metabolism. *New Phytologist*, 66(2), 143-184. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1967.tb05997.x>.
- Li, J., Phan, T.-T., Li, Y.-R., Xing, Y.-X., & Yang, L.-T. (2018). Isolation, transformation and overexpression of sugarcane *SoP5CS* gene for drought tolerance improvement. *Sugar Tech*, 20(4), 464-473. <https://doi.org/10.1007/s12355-017-0568-9>.

- Li, M., Li, Z., Li, S., Guo, S., Meng, Q., Li, G., & Yang, X. (2014). Genetic engineering of glycine betaine biosynthesis reduces heat-enhanced photoinhibition by enhancing antioxidative defense and alleviating lipid peroxidation in tomato. *Plant Molecular Biology Reporter*, 32(1), 42-51. <https://doi.org/10.1007/s11105-013-0594-z>.
- Li, R., Liu, C., Zhao, R., Wang, L., Chen, L., Yu, W., Zhang, S., Sheng, J., & Shen, L. (2019). CRISPR/Cas9-Mediated SINPR1 mutagenesis reduces tomato plant drought tolerance. *BMC Plant Biology*, 19(1), 38. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1627-4>.
- Liang, C., Meng, Z., Meng, Z., Malik, W., Yan, R., Lwin, K. M., Lin, F., Wang, Y., Sun, G., Zhou, T., Zhu, T., Li, J., Jin, S., Guo, S., & Zhang, R. (2016). GhABF2, a bZIP transcription factor, confers drought and salinity tolerance in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Scientific Reports*, 6(1), 35040. <https://doi.org/10.1038/srep35040>.
- Liao, X., Guo, X., Wang, Q., Wang, Y., Zhao, D., Yao, L., Wang, S., Liu, G., & Li, T. (2017). Overexpression of *MsDREB6.2* results in cytokinin-deficient developmental phenotypes and enhances drought tolerance in transgenic apple plants. *The Plant Journal*, 89(3), 510-526. <https://doi.org/10.1111/tpj.13401>.
- Liu, J., Chen, X., Wang, S., Wang, Y., Ouyang, Y., Yao, Y., Li, R., Fu, S., Hu, X., & Guo, J. (2019). *MeABL5*, an ABA insensitive 5-like basic leucine zipper transcription factor, positively regulates *MeCWINV3* in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). *Frontiers in Plant Science*, 10, 772. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00772>.
- Lv, S., Yang, A., Zhang, K., Wang, L., & Zhang, J. (2007). Increase of glycinebetaine synthesis improves drought tolerance in cotton. *Molecular Breeding*, 20(3), 233-248. <https://doi.org/10.1007/s11032-007-9086-x>.
- Lyu, J. I., Min, S. R., Lee, J. H., Lim, Y. H., Kim, J.-K., Bae, C.-H., & Liu, J. R. (2013). Overexpression of a trehalose-6-phosphate synthase/phosphatase fusion gene enhances tolerance and photosynthesis during drought and salt stress without growth aberrations in tomato. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 112(2), 257-262. <https://doi.org/10.1007/s11240-012-0225-7>.
- Lyu, J. I., Park, J. H., Kim, J.-K., Bae, C.-H., Jeong, W.-J., Min, S. R., & Liu, J. R. (2018). Enhanced tolerance to heat stress in transgenic tomato seeds and seedlings overexpressing a trehalose-6-phosphate synthase/phosphatase fusion gene. *Plant Biotechnology Reports*, 12(6), 399-408. <https://doi.org/10.1007/s11816-018-0505-8>.
- Lyzenga, W. J., & Stone, S. L. (2012). Abiotic stress tolerance mediated by protein ubiquitination. *Journal of Experimental Botany*, 63(2), 599-616. <https://doi.org/10.1093/jxb/err310>.
- Mao, H., Wang, H., Liu, S., Li, Z., Yang, X., Yan, J., Li, J., Tran, L.-S. P., & Qin, F. (2015). A transposable element in a NAC gene is associated with drought tolerance in maize seedlings. *Nature Communications*, 6(1), 8326. <https://doi.org/10.1038/ncomms9326>.
- Meng, X., Wang, J.-R., Wang, G.-D., Liang, X.-Q., Li, X.-D., & Meng, Q.-W. (2015). An R2R3-MYB gene, *LeAN2*, positively regulated the thermo-tolerance in transgenic tomato. *Journal of Plant Physiology*, 175(1), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.09.018>.
- Moghaieb, R. E. A., Tanaka, N., Saneoka, H., Hussein, H. A., Yousef, S. S., Ewada, M. A.-F., Aly, M. A. M., & Fujita, K. (2000). Expression of betaine aldehyde dehydrogenase gene in transgenic tomato hairy roots leads to the accumulation of glycine betaine and contributes to the maintenance of the osmotic potential under salt stress. *Soil Science and Plant Nutrition*, 46(4), 873-883. <https://doi.org/10.1080/00380768.2000.10409153>.
- Molinari, H. B. C., Marur, C. J., Daros, E., de Campos, M. K. F., de Carvalho, J. F. R. P., Filho, J. C. B., Pereira, L. F. P., & Vieira, L. G. E. (2007). Evaluation of the stress-inducible production of proline in transgenic sugarcane (*Saccharum* spp.): Osmotic adjustment, chlorophyll fluorescence and oxidative stress. *Physiologia Plantarum*, 130(2), 218-229. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2007.00909.x>.
- Moon, S.-J., Han, S.-Y., Kim, D.-Y., Yoon, I. S., Shin, D., Byun, M.-O., Kwon, H.-B., & Kim, B.-G. (2015). Ectopic expression of a hot pepper bZIP-like transcription factor in potato enhances drought tolerance without decreasing tuber yield. *Plant Molecular Biology*, 89(4-5), 421-431. <https://doi.org/10.1007/s11103-015-0378-y>.
- Muñoz García, M. N., Cortelezzi, J. I., Fumagalli, M., & Capiati, D. A. (2018). Expression of the Arabidopsis *ABF4* gene in potato increases tuber yield, improves tuber quality and enhances salt and drought tolerance. *Plant Molecular Biology*, 98(1), 137-152. <https://doi.org/10.1007/s11103-018-0769-y>.
- Nakashima, K., Takasaki, H., Mizoi, J., Shinozaki, K., & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2012). NAC transcription factors in plant abiotic stress responses. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1819(2), 97-103. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2011.10.005>.
- Nan, H., Cao, D., Zhang, D., Li, Y., Lu, S., Tang, L., Yuan, X., Liu, B., & Kong, F. (2014). GmFT2a and GmFT5a redundantly and differentially regulate flowering through interaction with and upregulation of the bZIP transcription factor GmFDL19 in soybean. *PLoS ONE*, 9(5), e97669. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097669>.

- Nuccio, M. L., Wu, J., Mowers, R., Zhou, H.-P., Meghji, M., Primavesi, L. F., Paul, M. J., Chen, X., Gao, Y., Haque, E., Basu, S. S., & Lagrimini, L. M. (2015). Expression of trehalose-6-phosphate phosphatase in maize ears improves yield in well-watered and drought conditions. *Nature Biotechnology*, *33*(8), 862-869. <https://doi.org/10.1038/nbt.3277>.
- Nunes, C., O'Hara, L. E., Primavesi, L. F., Delatte, T. L., Schlupepman, H., Somsen, G. W., Silva, A. B., Fevereiro, P. S., Wingler, A., & Paul, M. J. (2013). The trehalose 6-phosphate/SnRK1 signaling pathway primes growth recovery following relief of sink limitation. *Plant Physiology*, *162*(3), 1720-1732. <https://doi.org/10.1104/pp.113.220657>.
- Osakabe, Y., Watanabe, T., Sugano, S. S., Ueta, R., Ishihara, R., Shinozaki, K., & Osakabe, K. (2016). Optimization of CRISPR/Cas9 genome editing to modify abiotic stress responses in plants. *Scientific Reports*, *6*(1), 26685. <https://doi.org/10.1038/srep26685>.
- Parmar, N., Singh, K. H., Sharma, D., Singh, L., Kumar, P., Nanjundan, J., Khan, Y. J., Chauhan, D. K., & Thakur, A. K. (2017). Genetic engineering strategies for biotic and abiotic stress tolerance and quality enhancement in horticultural crops: A comprehensive review. *3 Biotech*, *7*(4), 239. <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0870-y>.
- Patel, K. G., Mandaliya, V. B., Mishra, G. P., Dobaría, J. R., & Thankappan, R. (2016). Transgenic peanut overexpressing *mtlD* gene confers enhanced salinity stress tolerance via mannitol accumulation and differential antioxidative responses. *Acta Physiologiae Plantarum*, *38*(7), 181. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2200-0>.
- Patel, K. G., Thankappan, R., Mishra, G. P., Mandaliya, V. B., Kumar, A., & Dobaría, J. R. (2017). Transgenic peanut (*Arachis hypogaea* L.) overexpressing *mtlD* gene showed improved photosynthetic, physio-biochemical, and yield-parameters under soil-moisture deficit stress in lysimeter system. *Frontiers in Plant Science*, *8*, 1881. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01881>.
- Patel, P., Yadav, K., Ganapathi, T. R., & Penna, S. (2019). Plant miRNAome: Cross Talk in Abiotic Stressful Times. En V. R. Rajpal, D. Sehgal, A. Kumar, & S. N. Raina (Eds.), *Genetic Enhancement of Crops for Tolerance to Abiotic Stress: Mechanisms and Approaches* (Vol. 1, pp. 25-52). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-91956-0_2.
- Piao, S., Ciais, P., Huang, Y., Shen, Z., Peng, S., Li, J., Zhou, L., Liu, H., Ma, Y., Ding, Y., Friedlingstein, P., Liu, C., Tan, K., Yu, Y., Zhang, T., & Fang, J. (2010). The impacts of climate change on water resources and agriculture in China. *Nature*, *467*(7311), 43-51. <https://doi.org/10.1038/nature09364>.
- Piperno, D. R. (2011). The origins of plant cultivation and domestication in the New World tropics: Patterns, process, and new developments. *Current Anthropology*, *52*(S4), S453-S470. <https://doi.org/10.1086/659998>.
- Quan, R., Shang, M., Zhang, H., Zhao, Y., & Zhang, J. (2004a). Improved chilling tolerance by transformation with *betA* gene for the enhancement of glycine-betaine synthesis in maize. *Plant Science*, *166*(1), 141-149. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2003.08.018>.
- Quan, R., Shang, M., Zhang, H., Zhao, Y., & Zhang, J. (2004b). Engineering of enhanced glycine betaine synthesis improves drought tolerance in maize. *Plant Biotechnology Journal*, *2*(6), 477-486. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2004.00093.x>.
- Rahnama, H., Vakilian, H., Fahimi, H., & Ghareyazie, B. (2011). Enhanced salt stress tolerance in transgenic potato plants (*Solanum tuberosum* L.) expressing a bacterial *mtlD* gene. *Acta Physiologiae Plantarum*, *33*(4), 1521-1532. <https://doi.org/10.1007/s11738-010-0690-8>.
- Rani, R., Yadav, P., Barbadikar, K. M., Baliyan, N., Malhotra, E. V., Singh, B. K., Kumar, A., & Singh, D. (2016). CRISPR/Cas9: A promising way to exploit genetic variation in plants. *Biotechnology Letters*, *38*(12), 1991-2006. <https://doi.org/10.1007/s10529-016-2195-z>.
- Robatzek, S., & Somssich, I. E. (2001). A new member of the *Arabidopsis* WRKY transcription factor family, AtWRKY6, is associated with both senescence- and defence-related processes: AtWRKY6 is associated with senescence and defence. *The Plant Journal*, *28*(2), 123-133. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2001.01131.x>.
- Roy, S. J., Tucker, E. J., & Tester, M. (2011). Genetic analysis of abiotic stress tolerance in crops. *Current Opinion in Plant Biology*, *14*(3), 232-239. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.03.002>.
- Rushton, P. J., Macdonald, H., Huttly, A. K., Lazarus, C. M., & Hooley, R. (1995). Members of a new family of DNA-binding proteins bind to a conserved cis-element in the promoters of α -Amy2 genes. *Plant Molecular Biology*, *29*, 691-702. <https://doi.org/10.1007/BF00041160>.
- Sakamoto, A., & Murata, N. (2002). The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: Clues from transgenic plants. *Plant, Cell and Environment*, *25*(2), 163-171. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00790.x>.
- Sander, J. D., & Joung, J. K. (2014). CRISPR-Cas systems for editing, regulating and targeting genomes. *Nature Biotechnology*, *32*(4), 347-355. <https://doi.org/10.1038/nbt.2842>.

- Sarkar, T., Thankappan, R., Kumar, A., Mishra, G. P., & Dobaría, J. R. (2014). Heterologous expression of the *AtDREB1A* gene in transgenic peanut-conferred tolerance to drought and salinity stresses. *PLoS ONE*, 9 (12), e110507. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110507>.
- Sarkar, T., Thankappan, R., Kumar, A., Mishra, G. P., & Dobaría, J. R. (2016). Stress inducible expression of *AtDREB1A* transcription factor in transgenic peanut (*Arachis hypogaea* L.) conferred tolerance to soil-moisture deficit stress. *Frontiers in Plant Science*, 7, 935. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00935>.
- Scheben, A., & Edwards, D. (2017). Genome editors take on crops. *Science*, 355(6330), 1122-1123. <https://doi.org/10.1126/science.aal4680>.
- Seo, Y. S., Choi, J. Y., Kim, S. J., Kim, E. Y., Shin, J. S., & Kim, W. T. (2012). Constitutive expression of *CaRma1H1*, a hot pepper ER-localized RING E3 ubiquitin ligase, increases tolerance to drought and salt stresses in transgenic tomato plants. *Plant Cell Reports*, 31 (9), 1659-1665. <https://doi.org/10.1007/s00299-012-1278-0>.
- Shah, S. H., Ali, S., Jan, S. A., Jalal-Ud-Din, & Ali, G. M. (2015). Piercing and incubation method of in planta transformation producing stable transgenic plants by overexpressing *DREB1A* gene in tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 120(3), 1139-1157. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0670-6>.
- Shan, D.-P., Huang, J.-G., Yang, Y.-T., Guo, Y.-H., Wu, C.-A., Yang, G.-D., Gao, Z., & Zheng, C.-C. (2007). Cotton GhDREB1 increases plant tolerance to low temperature and is negatively regulated by gibberellic acid. *New Phytologist*, 176(1), 70-81. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02160.x>.
- Shen, S., Zhang, Q., Shi, Y., Sun, Z., Zhang, Q., Hou, S., Wu, R., Jiang, L., Zhao, X., & Guo, Y. (2019). Genome-wide analysis of the NAC domain transcription factor gene family in *Theobroma cacao*. *Genes*, 11(1), 35. <https://doi.org/10.3390/genes11010035>.
- Shi, J., Gao, H., Wang, H., Lafitte, H. R., Archibald, R. L., Yang, M., Hakimi, S. M., Mo, H., & Habben, J. E. (2017). ARGOS8 variants generated by CRISPR-Cas9 improve maize grain yield under field drought stress conditions. *Plant Biotechnology Journal*, 15(2), 207-216. <https://doi.org/10.1111/pbi.12603>.
- Shi, J., Habben, J. E., Archibald, R. L., Drummond, B. J., Chamberlin, M. A., Williams, R. W., Lafitte, H. R., & Weers, B. P. (2015). Overexpression of ARGOS genes modifies plant sensitivity to ethylene, leading to improved drought tolerance in both *Arabidopsis* and maize. *Plant Physiology*, 169(1), 266-282. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00780>.
- Shim, J. S., Seo, J.-S., Seo, J. S., Kim, Y., Koo, Y., Do Choi, Y., & Jung, C. (2019). Heterologous expression of bacterial trehalose biosynthetic genes enhances trehalose accumulation in potato plants without adverse growth effects. *Plant Biotechnology Reports*, 13 (4), 409-418. <https://doi.org/10.1007/s11816-019-00554-z>.
- Shin, D., Moon, S.-J., Han, S., Kim, B.-G., Park, S. R., Lee, S.-K., Yoon, H.-J., Lee, H. E., Kwon, H.-B., Baek, D., Yi, B. Y., & Byun, M.-O. (2011). Expression of *StMYB1R-1*, a novel potato single MYB-like domain transcription factor, increases drought tolerance. *Plant Physiology*, 155(1), 421-432. <https://doi.org/10.1104/pp.110.163634>.
- Shriram, V., Kumar, V., Devarumath, R. M., Khare, T. S., & Wani, S. H. (2016). MicroRNAs as potential targets for abiotic stress tolerance in plants. *Frontiers in Plant Science*, 7, 817. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00817>.
- Singh, D., & Laxmi, A. (2015). Transcriptional regulation of drought response: A tortuous network of transcriptional factors. *Frontiers in Plant Science*, 6, 895. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00895>.
- Singh, M., Kumar, J., Singh, S., Singh, V. P., & Prasad, S. M. (2015). Roles of osmoprotectants in improving salinity and drought tolerance in plants: A review. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology*, 14(3), 407-426. <https://doi.org/10.1007/s11157-015-9372-8>.
- Song, J., Zhang, R., Yue, D., Chen, X., Guo, Z., Cheng, C., Hu, M., Zhang, J., & Zhang, K. (2018). Co-expression of *ApGSMT2g* and *ApDMT2g* in cotton enhances salt tolerance and increases seed cotton yield in saline fields. *Plant Science*, 274, 369-382. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.06.007>.
- Sternberg, S. H., & Doudna, J. A. (2015). Expanding the biologist's toolkit with CRISPR-Cas9. *Molecular Cell*, 58(4), 568-574. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.02.032>.
- Stiller, I., Dulai, S., Kondrák, M., Tarnai, R., Szabó, L., Toldi, O., & Bánfalvi, Z. (2008). Effects of drought on water content and photosynthetic parameters in potato plants expressing the trehalose-6-phosphate synthase gene of *Saccharomyces cerevisiae*. *Planta*, 227 (2), 299-308. <https://doi.org/10.1007/s00425-007-0617-9>.
- Strathmann, A., Kuhlmann, M., Heinekamp, T., & Dröge-Laser, W. (2001). BZI-1 specifically heterodimerises with the tobacco bZIP transcription factors BZI-2, BZI-3/TBZF and BZI-4, and is functionally involved in flower development. *The Plant Journal*, 28(4), 397-408. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2001.01164.x>.

- Sun, C., Palmqvist, S., Olsson, H., Borén, M., Ahlandsberg, S., & Jansson, C. (2003). A novel WRKY transcription factor, SUSIBA2, participates in sugar signaling in barley by binding to the sugar-responsive elements of the *iso1* promoter. *The Plant Cell*, 15(9), 2076-2092. <https://doi.org/10.1105/tpc.014597>.
- Sun, X., Gao, Y., Li, H., Yang, S., & Liu, Y. (2015). Overexpression of *SlWRKY39* leads to enhanced resistance to multiple stress factors in tomato. *Journal of Plant Biology*, 58(1), 52-60. <https://doi.org/10.1007/s12374-014-0407-4>.
- Tang, W., & Tang, A. Y. (2017). Applications and roles of the CRISPR system in genome editing of plants. *Journal of Forestry Research*, 28(1), 15-28. <https://doi.org/10.1007/s11676-016-0281-7>.
- Thirumalaikumar, V. P., Devkar, V., Mehterov, N., Ali, S., Ozgur, R., Turkan, I., Mueller-Roeber, B., & Balazadeh, S. (2018). NAC transcription factor JUNGBRUNNEN1 enhances drought tolerance in tomato. *Plant Biotechnology Journal*, 16(2), 354-366. <https://doi.org/10.1111/pbi.12776>.
- Todaka, D., Shinozaki, K., & Yamaguchi-Shinozaki, K. (2015). Recent advances in the dissection of drought-stress regulatory networks and strategies for development of drought-tolerant transgenic rice plants. *Frontiers in Plant Science*, 6, 84. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00084>.
- Tuteja, N. (2007). Abscisic acid and abiotic stress signaling. *Plant Signaling & Behavior*, 2(3), 135-138. <https://doi.org/10.4161/psb.2.3.4156>.
- Udvardy, M. D. F. (1975). *A Classification of the Biogeographical Provinces of the World* [IUCN Occasional Paper No.18].
- Ullah, A., Ul Qamar, M. T., Nisar, M., Hazrat, A., Rahim, G., Khan, A. H., Hayat, K., Ahmed, S., Ali, W., Khan, A., & Yang, X. (2020). Characterization of a novel cotton MYB gene, *GhMYB108-like* responsive to abiotic stresses. *Molecular Biology Reports*, 47(3), 1573-1581. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05244-6>.
- Varshney, R. K., Bansal, K. C., Aggarwal, P. K., Datta, S. K., & Craufurd, P. Q. (2011). Agricultural biotechnology for crop improvement in a variable climate: Hope or hype? *Trends in Plant Science*, 16(7), 363-371. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.03.004>.
- Verweij, W., Spelt, C. E., Bliet, M., de Vries, M., Wit, N., Faraco, M., Koes, R., & Quattrocchio, F. M. (2016). Functionally similar WRKY proteins regulate vacuolar acidification in petunia and hair development in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 28(3), 786-803. <https://doi.org/10.1105/tpc.15.00608>.
- Walthall, C. L., Hatfield, J., Backlund, P., Lengnick, L., Marshall, E., Walsh, M., Adkins, S., Aillery, M., Ainsworth, E. A., Ammann, C., Anderson, C. J., Bar-
tomeus, I., Baumgard, L. H., Booker, F., Bradley, B., Blumenthal, D. M., Bunce, J., Burkey, K., Dabney, S. M., ... Ziska, L. H. (2012). *Climate Change and Agriculture in the United States: Effects and Adaptation* (USDA Technical Bulletin N.º 1935; p. 186). U.S. Department of Agriculture (USDA).
- Wang, C., Lu, G., Hao, Y., Guo, H., Guo, Y., Zhao, J., & Cheng, H. (2017a). ABP9, a maize bZIP transcription factor, enhances tolerance to salt and drought in transgenic cotton. *Planta*, 246(3), 453-469. <https://doi.org/10.1007/s00425-017-2704-x>.
- Wang, C.-T., Yang, Q., & Yang, Y.-M. (2011). Characterization of the *ZmDBP4* gene encoding a CRT/DRE-binding protein responsive to drought and cold stress in maize. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33(2), 575-583. <https://doi.org/10.1007/s11738-010-0582-y>.
- Wang, L., Chen, L., Li, R., Zhao, R., Yang, M., Sheng, J., & Shen, L. (2017b). Reduced drought tolerance by CRISPR/Cas9-mediated *SIMAPK3* mutagenesis in tomato plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(39), 8674-8682. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02745>.
- Wang, W., Vinocur, B., & Altman, A. (2003). Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: Towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218(1), 1-14. <https://doi.org/10.1007/s00425-003-1105-5>.
- Wani, S. H., Kumar, V., Shriram, V., & Sah, S. K. (2016). Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants. *The Crop Journal*, 4(3), 162-176. <https://doi.org/10.1016/j.cj.2016.01.010>.
- Wei, D., Zhang, W., Wang, C., Meng, Q., Li, G., Chen, T. H. H., & Yang, X. (2017). Genetic engineering of the biosynthesis of glycinebetaine leads to alleviate salt-induced potassium efflux and enhances salt tolerance in tomato plants. *Plant Science*, 257, 74-83. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.01.012>.
- Xu, Q., He, Q., Li, S., & Tian, Z. (2014). Molecular characterization of *StNAC2* in potato and its overexpression confers drought and salt tolerance. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36(7), 1841-1851. <https://doi.org/10.1007/s11738-014-1558-0>.
- Yatsyshyn, V. Yu., Kvasko, A. Yu., & Yemets, A. I. (2017). Genetic approaches in research on the role of trehalose in plants. *Cytology and Genetics*, 51(5), 371-383. <https://doi.org/10.3103/S0095452717050127>.
- Yin, Y., Zhu, Q., Dai, S., Lamb, C., & Beachy, R. N. (1997). RF2a, a bZIP transcriptional activator of the phloem-specific rice tungro bacilliform virus promoter, functions in vascular development. *The EMBO Journal*, 16(17), 5247-5259. <https://doi.org/10.1093/emboj/16.17.5247>.

- You, L., Song, Q., Wu, Y., Li, S., Jiang, C., Chang, L., Yang, X., & Zhang, J. (2019). Accumulation of glycine betaine in transplastomic potato plants expressing choline oxidase confers improved drought tolerance. *Planta*, *249*(6), 1963-1975. <https://doi.org/10.1007/s00425-019-03132-3>.
- Zhai, H., Wang, F., Si, Z., Huo, J., Xing, L., An, Y., He, S., & Liu, Q. (2016). A myo-inositol-1-phosphate synthase gene, *lbMIPS1*, enhances salt and drought tolerance and stem nematode resistance in transgenic sweet potato. *Plant Biotechnology Journal*, *14*(2), 592-602. <https://doi.org/10.1111/pbi.12402>.
- Zhang, C.-Q., Xu, Y., Lu, Y., Yu, H.-X., Gu, M.-H., & Liu, Q.-Q. (2011a). The WRKY transcription factor OsWRKY78 regulates stem elongation and seed development in rice. *Planta*, *234*(3), 541-554. <https://doi.org/10.1007/s00425-011-1423-y>.
- Zhang, H., Ma, F., Wang, X., Liu, S., Saeed, U. H., Hou, X., Zhang, Y., Luo, D., Meng, Y., Zhang, W., Abid, K., & Chen, R. (2020). Molecular and functional characterization of CaNAC035, an NAC transcription factor from pepper (*Capsicum annuum* L.). *Frontiers in Plant Science*, *11*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00014>.
- Zhang, H., Dong, H., Li, W., Sun, Y., Chen, S., & Kong, X. (2009). Increased glycine betaine synthesis and salinity tolerance in *AhCMO* transgenic cotton lines. *Molecular Breeding*, *23*(2), 289-298. <https://doi.org/10.1007/s11032-008-9233-z>.
- Zhang, K., Guo, N., Lian, L., Wang, J., Lv, S., & Zhang, J. (2011b). Improved salt tolerance and seed cotton yield in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) by transformation with *betA* gene for glycinebetaine synthesis. *Euphytica*, *181*(1), 1-16. <https://doi.org/10.1007/s10681-011-0354-9>.
- Zhang, L., Gu, L., Ringler, P., Smith, S., Rushton, P. J., & Shen, Q. J. (2015). Three WRKY transcription factors additively repress abscisic acid and gibberellin signaling in aleurone cells. *Plant Science*, *236*, 214-222. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.04.014>.
- Zhang, S., Li, N., Gao, F., Yang, A., & Zhang, J. (2010). Over-expression of *TsCBF1* gene confers improved drought tolerance in transgenic maize. *Molecular Breeding*, *26*(3), 455-465. <https://doi.org/10.1007/s11032-009-9385-5>.
- Zhou, W., Jia, C.-G., Wu, X., Hu, R.-X., Yu, G., Zhang, X.-H., Liu, J.-L., & Pan, H.-Y. (2016). ZmDBF3, a novel transcription factor from maize (*Zea mays* L.), is involved in multiple abiotic stress tolerance. *Plant Molecular Biology Reporter*, *34*(1), 353-364. <https://doi.org/10.1007/s11105-015-0926-2>.