

Resumen

Las plantas que viven en climas templados han tenido que desarrollar mecanismos adaptativos para hacer frente a las distintas restricciones medioambientales, como por ejemplo los cambios estacionales de temperatura, que limitan su crecimiento normal. Un ejemplo de una adaptación fascinante ocurre durante los meses de invierno, cuando los árboles caducos forman unas estructuras denominadas yemas para proteger a las células en crecimiento de las condiciones medioambientales desfavorables. En ese periodo, el árbol cesa su crecimiento y permanece en un estado conocido como latencia. Estas yemas son capaces de salir de latencia únicamente cuando reciben una cantidad determinada de frío. En ese momento las yemas entran en un periodo conocido como ecolatencia, en el cual la yema ya es capaz de brotar pero únicamente lo hará cuando las condiciones medioambientales vuelvan a ser favorables. En un escenario de cambio climático, se espera que disminuya la cantidad de frío invernal disponible, alterando por tanto la salida de latencia y consecuentemente la floración de la mayoría de árboles frutales. El estudio de genes regulados durante la latencia es crucial para comprender este proceso, y así poder desarrollar nuevas herramientas que permitan adaptarnos mejor a las nuevas condiciones climáticas. Por esta razón, el objetivo general de esta tesis es el estudio de la latencia desde un punto de vista molecular, identificando mecanismos y genes diana que la controlen. Para ello, nos hemos centrado en el estudio de tres genes que se expresan de manera diferencial durante el desarrollo de una yema reproductiva en melocotón, bajo el marco conceptual de los tres procesos que convergen espacialmente y temporalmente en una yema reproductiva: latencia, tolerancia a estrés y desarrollo floral.

El primer gen que se estudió codificó para una STRESS ASSOCIATED PROTEIN (*PpSAP1*) con dos dominios tipo Zn-finger, A20 y AN1 que disminuye su expresión durante la latencia. Las proteínas tipo SAP se han relacionado con resistencias a distintos tipos de estrés tanto en plantas como en animales. De hecho, se ha visto que *PpSAP1* aumentó su expresión en yemas de melocotón bajo condiciones de estrés por sequía, de forma similar a como lo hacen otras SAP en distintas plantas. Además, la expresión ectópica de *PpSAP1* en ciruelos transgénicos ha permitido aumentar la tolerancia a estrés hídrico en estas líneas al incrementar la cantidad de agua retenida. Asimismo, estas plantas transgénicas también mostraron alteraciones en el tamaño de las hojas, provocadas principalmente por una menor área celular de las células que formaban parte de ellas y relacionadas con una represión de distintos genes implicados en crecimiento celular. Todo ello sugiere que *PpSAP1* probablemente tenga una doble función relacionada tanto con resistencia a estrés como con crecimiento celular durante la latencia de melocotonero.

El segundo gen de estudio fue *PpeS6PDH*, el cual codifica para una enzima con actividad sorbitol-6-fosfato deshidrogenasa. *PpeS6PDH* está diferencialmente regulado durante el desarrollo de la yema, aumentando su expresión en yemas latentes de manera consistente a la acumulación de sorbitol. Simultáneamente a la disminución de *PpeS6PDH* en las yemas no

latentes, alrededor del sitio de inicio de la traducción del gen se mostraron cambios a nivel de cromatina en el estado de metilación de los residuos específicos de la histona H3 (H3K4 y H3K27). Estos datos apuntan a la existencia de una regulación transcripcional de *PpeS6PDH* a nivel de modificaciones de la cromatina. Además, también se ha visto que distintos tipos de estrés abiótico afectan a la expresión de *PpeS6PDH*. Tratamientos con bajas temperaturas indujeron su expresión tanto en yemas como en hojas, mientras que la desecación aumentó la expresión en yemas pero no en hojas. Estos estudios sugieren que la función de *PpeS6PDH* durante la latencia de melocotonero es dar tolerancia a estrés por frío y sequía.

Finalmente, el tercer gen de estudio fue *PpeDAM6*, uno de los mayores reguladores de la latencia en yemas de melocotonero. *PpeDAM6* está fuertemente reprimido durante el desarrollo de la yema con una relación directa con los eventos de salida de latencia. Esta represión se debe en parte a la unión directa de PpeBPC1, una BASIC PENTACYSSTEINE PROTEIN, a dos motivos GAGA presentes en la región intrónica reguladora de *PpeDAM6*. Justamente esta región se encuentra modificada a nivel de cromatina con un enriquecimiento en H3K27me3 después de la salida de latencia. Además, la expresión ectópica de *PpeDAM6* en *Arabidopsis* mostró fenotipos de floración anormal parecidos a los producidos en plantas 35S::SVP. Por otro lado, la sobreexpresión en ciruelos provocó retrasos en el crecimiento de las líneas transgénicas, debido a una alteración en los niveles hormonales. Así mismo, se determinó que estos cambios en la homeostasis hormonal estaban producidos por la regulación diferencial de genes involucrados en las rutas del ácido jasmónico, las citoquininas y del ácido giberélico en las plantas transgénicas. Estos resultados sugieren que *PpeDAM6* actúa como un represor máster del crecimiento, manteniendo la latencia, la respuesta de tolerancia a estrés y la inhibición floral a través de la regulación del equilibrio hormonal.

Con todo ello, esta tesis proporciona una instantánea dinámica de los diferentes mecanismos moleculares que tienen lugar dentro de la yema. Los genes estudiados tienen una función crucial regulando tanto el proceso de latencia como la respuesta de tolerancia a estrés y las rutas de floración, y todos ellos son potenciales candidatos para mejorar nuevas plantas más adaptadas al cambio climático.