

RESUMEN

Las giberelinas (GAs) son hormonas vegetales que regulan diversos procesos del desarrollo vegetativo y reproductivo de las plantas. Los niveles de GAs activas están regulados principalmente por enzimas de biosíntesis como las GA 20-oxidases (GA20ox) y GA 3-oxidases (GA3ox) y por enzimas de catabolismo como las GA 2-oxidases (GA2oxs). En tomate (*Solanum lycopersicum* L.) las GA2oxs están codificadas por una familia multigénica de 5 miembros, *SIGA2ox*. El objetivo principal de nuestro trabajo es estudiar el papel de los genes *SIGA2ox* en el desarrollo de tomate. Para determinar como están regulados estos genes estudiamos su patrón de expresión en tejidos vegetativos y reproductivos de tomate y en respuesta a variaciones en los niveles endógenos de GAs. Se observó que los genes *SIGA2ox* tienen un alto grado de redundancia y que, en plántulas, no son inducibles por GAs. Los genes con mayores niveles de expresión en los tejidos vegetativos resultaron ser los genes *SIGA2ox3*, -4 y -5 mientras que los genes *SIGA2ox1* y *SIGA2ox2* parecen ser importantes en el control del crecimiento del ovario ya que están reprimidos en ovarios polinizados en crecimiento y se inducen en ovarios no fertilizados.

Para estudiar la función de estos genes en el desarrollo de la planta se empleó un abordaje de genética reversa usando silenciamiento génico post-transcripcional múltiple y simple. Para el silenciamiento múltiple se usó una construcción de tipo horquilla con una secuencia quimérica homóloga a los cinco genes (*shRNA2ox*) y para el silenciamiento del gen *SIGA2ox1* se usó una construcción de tipo micro-RNA artificial (*amiRNA2ox1*). Ambas construcciones indujeron el silenciamiento, siendo éste más eficiente cuánto más abundante es el mensajero diana. El silenciamiento múltiple inducido por la construcción *35S::shRNA2ox* provocó un incremento significativo de los niveles de la giberelina activa GA₄ en ovarios. Además, los ovarios no fertilizados crecían mucho más en las plantas transgénicas que en las plantas silvestres (al menos 30 veces más) y presentaban cierto grado de capacidad partenocárpica que no poseían las plantas silvestres, desarrollando entre un 5 y un 37% de frutos partenocárpicos. Los ovarios polinizados de las plantas transgénicas se desarrollaban algo más rápido inicialmente, pero producían frutos del mismo tamaño a los silvestres. Estos resultados sugieren que el papel de las GAs en el crecimiento del fruto de tomate puede estar mediado, al menos en parte, por las GA 2-oxidases. En el desarrollo vegetativo de estas plantas no se detectaron los efectos fenotípicos clásicos de la superproducción de GAs, ni se detectó ningún incremento en los niveles de GAs en tallos ni en ápices. Sin embargo se observó una inhibición significativa de la ramificación lateral que parecía deberse a un mayor contenido de GA₄ detectado en las yemas axilares. Este fenotipo, no esperado, era suprimido eficientemente cuando se inhibía la síntesis de GAs mediante la aplicación del inhibidor paclobutrazol. Estos resultados sugieren un papel para las GAs como represores de la ramificación y que las GA 2-oxidases son importantes en el control

de la aparición de ramas laterales mediado por GAs. En las plantas *35S::amiRNA2ox1*, donde solo se silenció el gen *SIGA2ox1*, a diferencia de lo que ocurre en las plantas de silenciamiento múltiple, no se detectaron cambios en los niveles de GAs activas, ni alteraciones en la ramificación, ni se mostraron efectos reproducibles sobre la partenocarpia. De estos resultados se deduce que el silenciamiento del gen *SIGA2ox1* no es suficiente para inducir cambios significativos en el fenotipo de las plantas de tomate probablemente debido a la redundancia génica. En resumen, las GA 2-oxidasas parecen tener un papel en la regulación de los niveles de GAs en los ovarios y en las yemas axilares de tomate y su silenciamiento génico puede inducir crecimiento partenocárpico de los ovarios e inhibición de la ramificación.