

# Tabla de Contenidos

<b>Lista de Figuras</b> .....	11
<b>Resúmenes</b> .....	15
<b>Introducción</b> .....	21
La evolución de las Angiospermas .....	23
La flor como estructura clave en la reproducción de las Angiospermas .....	24
Desarrollo de los estambres: el Androceo .....	24
Desarrollo del gineceo: Carpelos y Frutos .....	25
Genes asociados con el desarrollo de los órganos fértiles de las flores .....	27
Genes asociados a la dehiscencia de las anteras .....	28
Genética del desarrollo del gineceo .....	28
Red genética del desarrollo del fruto .....	31
Los genes bHLH en las Angiospermas .....	33
<i>Nicotiana benthamiana</i> como modelo .....	35
<b>Objetivos</b> .....	39
<b>Materiales y Métodos</b> .....	43
Material vegetal .....	45
Líneas transgénicas .....	45
Microorganismos .....	46
Cultivo de bacterias .....	46
Aislamiento de ácidos nucleicos .....	46
Extracción de plásmidos de DNA .....	46
Manipulación de ácidos nucleicos .....	47
Secuenciación .....	49
Caracterización Funcional .....	50
Análisis del DNA genómico editado e identificación de los alelos mutantes de <i>N. benthamiana</i> .....	52
Fijación e inclusión de muestras vegetales en parafinas .....	52
Hibridación <i>in situ</i> de RNA .....	52
Microscopia Electrónica de Barrido (SEM) .....	53
Coloración fluroglucinol-HCl .....	53

Coloración con azul de anilina para los tubos polínicos .....	53
Análisis evolutivo .....	54
Aislamiento de genes y análisis filogenético .....	54
Microsintenia .....	54
<b>Resultados</b> .....	57
Análisis filogenético de los genes <i>HEC1/2/3/IND</i> .....	59
Expresión de los genes <i>NibeHEC3a</i> y <i>NibeHEC3b</i> durante el desarrollo de <i>N. benthamiana</i> .....	62
Análisis mediante qRT PCR. ....	62
Análisis por hibridación <i>in situ</i> .....	64
Identificación de los mutantes: <i>Nibehec3-CRISPR/ Nibehec3-TRV</i> .....	69
Silenciamiento Genético Inducido por Virus (VIGS) .....	69
Sistema CRISPR-Cas9 adaptado a la herramienta multiplexing de GoldenBraid .....	73
Identificación de los alelos mutantes de <i>N. benthamiana</i> . ....	75
Caracterización Funcional del Ortólogo de <i>HEC3</i> en <i>Nicotiana benthamiana</i> .....	79
<i>NibeHEC3a</i> es necesario para el correcto desarrollo del gineceo de <i>N. benthamiana</i> .....	79
<i>NibeHEC3a</i> está asociado a la dehiscencia del fruto de <i>N. benthamiana</i> .....	82
<i>NibeHEC3a</i> desarrolla un papel importante en la dehiscencia de las anteras <i>N. benthamiana</i> .....	84
Entendiendo la evolución de los genes homeólogos <i>NibeHEC3a</i> y <i>NibeHEC3b</i> .....	85
Complementación Heteróloga del gen <i>NibeHEC3a</i> en el fondo mutante <i>ind</i> .....	89
<b>Discusión</b> .....	95
Evolución del linaje <i>HECATE/INDEHISCENT</i> .....	97
<i>NibeHEC3</i> tiene funciones conservadas en la diferenciación de los tejidos más apicales del gineceo.....	99
<i>NibeHEC3</i> está implicado en la formación de la zona de dehiscencia de frutos y anteras. .....	102
<i>HECATE/INDEHISCENT</i> un modelo para la evolución funcional de las Angiospermas .....	104
<b>Conclusiones</b> .....	109
<b>Referencias</b> .....	113
<b>Anexos</b> .....	127