

Índice de contenidos

AGRADECIMIENTOS.....	I
RESÚMENES.....	V
RESUMEN	VII
RESUM.....	IX
ABSTRACT	XI
ÍNDICE	XIII
ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS.....	XVII
INTRODUCCIÓN.....	1
La parada de la proliferación en plantas monocárpicas.....	3
El final de la floración en <i>Arabidopsis</i>	4
Mantenimiento de la indeterminación del meristemo.	7
La ruta <i>FUL/AP2</i>	8
Antes de la ruta <i>FUL/AP2</i> : Los genes <i>SPL</i>	11
Después de la ruta <i>FUL/AP2</i> : dormancia, ácido abscísico y genes <i>HB</i>	16
OBJETIVOS	21
CAPÍTULO 1	25
Los genes <i>SPL-ANQ</i> comparten patrón de expresión con <i>FUL</i>	27
Los genes <i>SPL-ANQ</i> son necesarios para el correcto desarrollo de la planta y el control de la parada proliferativa.....	30
Relación de los genes <i>SPL-ANQ</i> con el gen <i>FUL</i>	38
Los genes <i>SPL-ANQ</i> podrían estar regulando la parada de la proliferación afectando a la señalización por ABA	47
Los mutantes en los genes <i>SPL-ANQ</i> son insensibles al estrés por sacarosa	54
Discusión.....	59
CAPÍTULO 2	67
<i>HB21</i> se acumula en el ápice floral cerca de la parada de la floración	69

Índice

<i>HB21</i> es capaz de inducir la parada del meristemo cuando se expresa en el SAM.	71
<i>HB21</i> controla la parada del meristemo de manera redundante con <i>HB40</i> y <i>HB53</i> .	74
<i>HB21</i> controla la parada del meristemo controlando la respuesta a ABA	82
Discusión	87
DISCUSIÓN GENERAL	91
CONCLUSIONES	97
MATERIAL Y MÉTODOS	101
Material biológico y condiciones de cultivo.....	103
Métodos de biología molecular	106
Transformación genética.....	114
Análisis fenotípico.....	116
Estudios relacionados con ácido abscísico	116
Inducción con Dexametasona.....	117
Estudios de expresión.....	117
Obtención de fotografías.	119
Análisis transcriptómico: RNAseq.....	120
Análisis estadístico.....	121
BIBLIOGRAFÍA	123
ANEXOS	135

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

INTRODUCCIÓN

Figura I.1. Desarrollo de <i>Arabidopsis thaliana</i>	5
Figura I.2. La eliminación de frutos produce una flor indeterminada.....	6
Figura I.3. La mutación del gen <i>FUL</i> no produce flor terminal.....	10
Figura I.4. La inducción de <i>AP2</i> recupera la actividad del meristemo.....	10
Figura I.5. Modelo de la ruta <i>FUL-AP2</i>	11
Figura I.6. Árbol sin enraizar de 120 dominios SBP hecho por máxima-likelihood.....	12
Figura I.7. Los genes <i>SPL</i> de <i>Arabidopsis</i>	14
Figura I.8. Los genes <i>SPL-ANQ</i> se expresan al final de la proliferación y pueden activar el promotor de <i>FUL</i>	15
Figura I.9. Respuesta a la inducción de <i>AP2</i> en el meristemo inflorescente.....	17
Figura I.10. Árbol filogenético de la familia HD-ZIP en <i>Arabidopsis</i>	18
Figura I.11. Expresión de los genes HD-ZIP I en <i>Arabidopsis</i>	19

CAPITULO 1

Figura C1.1. Patrón de expresión de <i>FUL</i> , <i>SPL1</i> y <i>SPL16</i>	28
Figura C1.2. Expresión relativa de <i>YFP</i> en inflorescencia apical en líneas <i>SPL16pro::SPL16-YFP</i>	30
Figura C1.3. Diagrama de la localización de la inserción de T-DNA en los genes <i>SPL1-ANQ</i> según la información disponible en el TAIR.....	31
Figura C1.4. Conteo de flores en Col-0 y <i>sp1/12/14/16</i>	32
Figura C1.5. Fenotipo de las plantas <i>sp1-quad</i>	33
Figura C1.6. Conteo de flores en Col-0 y <i>sp1-quad</i>	34
Figura C1.7. Comparación de los frutos <i>sp1-quad</i> <i>35S::FUL</i>	35
Figura C1.8. Diagrama del gen <i>OTU1</i> y conteo de flores producidas por sus mutantes.....	36
Figura C1.9. Diagrama de porcentaje de plantas segú sus frutos producidos en Col-0, <i>otu1-1</i> y <i>otu1-2</i>	37
Figura C1.10. Patrón de expresión en distintos momentos del desarrollo vegetativo de plantas con el reportero <i>FULpro:GUS</i> en fondo Col-0 y <i>sp1-quad</i>	38
Figura C1.11. Análisis por qRT-PCR de los niveles de transcripto de <i>FUL</i> en el meristemo apical del tallo a lo largo del desarrollo de Col-0 y <i>sp1-quad</i>	40
Figura C1.12. Diagrama de la localización del CRISPR del gen <i>FUL</i>	40
Figura C1.13. Conteo de hojas de roseta y caulinares producidas y días tras la germinación necesarios en Col-0, <i>sp1-quad</i> , <i>ful-2</i> y <i>sp1-quad ful-cr</i> hasta el alzado y primera flor en antesis en día largo.....	42
Figura C1.14. Conteo de hojas de roseta y caulinares producidas y días tras la germinación necesarios en Col-0, <i>sp1-quad</i> , <i>ful-2</i> y <i>sp1-quad ful-cr</i> hasta el alzado y primera flor en antesis en día corto.....	43

Figura C1.15. Fenotipo de las plantas <i>spl-quad ful-cr</i>	45
Figura C1.16. Conteo de flores producidas en Col-0, <i>spl-quad</i> , <i>ful-2</i> y <i>spl-quad ful-cr</i> desde el alzado hasta la parada proliferativa.....	47
Figura C1.17. Categorías GO enriquecidas para los DEGs en meristemos del mutante <i>spl-quad</i> frente al genotipo silvestre a tres semanas del alzado.....	50
Figura C1.18. Categorías GO enriquecidas para los DEGs en meristemos del mutante <i>spl-quad</i> frente al genotipo silvestre que se mantienen a lo largo del desarrollo floral.....	51
Figura C1.19. Comparación de DEGs en <i>spl-quad</i> y AP2ind.....	53
Figura C1.20. Porcentaje de germinación y grado de desarrollo de plantas Col-0, <i>spl-quad</i> , 35S::SPL14 y <i>nced3-2</i> en placas suplementadas con distintas concentraciones de sacarosa.....	57
Figura C1.21. Crecimiento en placas MS con 250mM de sacarosa de plantas Col-0, <i>spl-quad</i> , 35S::SPL14 y <i>nced3-2</i>	58
Figura D1.1. Expresión de los genes <i>SPL</i> en meristemo apical.....	60
Figura D1.2. La represión del gen <i>TCP7</i> produce efectos similares en inflorescencias que el quíntuple mutante <i>spl-quad ful-cr</i>	61
Figura D1.3. Modelo de ruta de <i>SPL-ANQ</i> en meristemo apical inflorescente.....	65
Tabla C1.1. Listado de DEGs activados en <i>spl-quad</i> y reprimidos en AP2ind relacionados con estrés.....	54
Tabla C1.2. Log2FC, padj y rpkm de genes de interés relacionados con <i>SPL-ANQ</i>	55

CAPITULO 2

Figura C2.1. La expresión de <i>HB21</i> aumenta cerca del final de la floración.....	70
Figura C2.2. La acumulación de WUS correlaciona negativamente con la activación de <i>HB21</i>	71
Figura C2.3. La inducción de <i>HB21</i> induce la parada de flores y meristemo.....	73
Figura C2.4. La parada del meristemo depende de la intensidad de la inducción de <i>HB21</i>	74
Figura C2.5. Diagrama del gen <i>HB21</i> según la información disponible en TAIR.....	75
Figura C2.6. Conteo de flores producidas en la inflorescencia principal en Col-0, <i>hb21-1</i> y <i>hb21-2</i> una vez producida la parada proliferativa.....	76
Figura C2.7. Número de flores producidas por mutantes simples y combinación de mutantes <i>HB21</i> , <i>HB40</i> y <i>HB53</i> en el tiempo.....	77
Figura C2.8. La expresión relativa de <i>HB21</i> , <i>HB40</i> y <i>HB53</i> aumenta al final de la floración en el ápice de la inflorescencia principal.....	78
Figura C2.9. Diagrama de la localización de la inserción de T-DNA en los genes <i>HB40</i> y <i>HB53</i> según la información disponible en el TAIR.....	79
Figura C2.10. <i>HB21</i> , <i>HB40</i> y <i>HB53</i> actúan redundantemente en la parada de la actividad del meristemo.....	80
Figura C2.11. Fenotipo de las plantas Col-0, <i>hb21-3</i> , <i>hb40</i> , <i>hb53-1</i> , <i>hb21-3/hb53-1</i> y <i>hb21-3/hb40/hb53-1</i>	81

Figura C2.12 Grupo de yemas florales en la inflorescencia principal con parada proliferativa en Col-0, <i>hb21-3</i> , <i>hb53-1</i> , <i>hb40</i> , <i>hb21-3 hb53-1</i> y <i>hb21-3 hb40 hb53-1</i>	82
Figura C2.13. Análisis de enriquecimiento funcional con las categorías GO sobrerepresentadas correspondientes a proceso biológico.....	84
Figura C2.14. <i>HB21</i> induce la producción de ácido abscísico.....	85
Figura C2.15. El ácido abscísico detiene el desarrollo del ápice inflorescente principal.....	86
Tabla C2.1. Log2FC, padj y tpms de genes de interés relacionados con <i>HB21</i> , <i>HB40</i> y <i>HB53</i>	87

DISCUSIÓN GENERAL

Figura D.1. Modelo de integración de la ruta de <i>SPL-ANQ</i> y <i>HB21</i> , <i>HB40</i> y <i>HB53</i> en el meristemo apical inflorescente.....	95
---	----

MATERIALES y MÉTODOS

Tabla M.1. Cepas bacterianas utilizadas en esta tesis.....	103
Tabla M.2. Genotipos y líneas transgénicas de <i>Arabidopsis</i> utilizadas en este trabajo.....	104
Tabla M.3. Antibióticos y concentraciones utilizadas en medios bacterianos.....	105
Tabla M.4. Oligonucleótidos utilizados a lo largo de la tesis.....	109
Tabla M.5. Vectores utilizados y obtenidos en este trabajo.....	111

ANEXOS

ANEXO I. Secuencia de aminoácidos de las proteínas FUL y FUL-cr.....	137
ANEXO II. Categorías GO de los DEGs activados y reprimidos en <i>spl-quad</i> vs Col-0 3sda.....	138
ANEXO III. Categorías GO de los DEGs en todo el desarrollo de <i>spl-quad</i> vs Col-0.....	144
ANEXO IV. Categorías GO de los DEGs activados y reprimidos en <i>spl-quad</i> 3 sda vs AP2ind.....	145
ANEXO V. Secuencia de aminoácidos de HB21 y HB21-3.....	148
ANEXO VI: Categorías de los DEGs activados y reprimidos al inducir <i>HB21</i>	149
ANEXO VII. Categorías GO de DEGs inducidos en HB21ind y reprimidos en AP2ind.....	156
ANEXO VIII. Abreviaturas.....	158