

Tabla de Contenido

Tabla de Contenido

1- Introducción	1
1.1. La estructura del fruto de <i>Arabidopsis</i>	3
1.2. La formación y desarrollo del fruto es un proceso coordinado y regulado por hormonas	5
1.3. Las GAs, biosíntesis y señalización durante el desarrollo.....	9
1.3.1. GID1 es el receptor de GAs.....	11
1.3.2. DELLA es el regulador negativo en la señalización por GAs.....	13
1.3.3. SLY es el regulador positivo la ruta de señalización por GAs.....	13
1.3.4. Formación del complejo GA-GID1-DELLA.....	14
1.4. La señalización por GAs en procesos de desarrollo.....	15
1.4.1. Los receptores GID1.....	15
1.4.2. Reguladores transcripcionales DELLA.....	16
1.5. Mecanismo molecular por el cual DELLA regula el crecimiento.....	18
1.5.1. Interacción proteína-proteína de las proteínas DELLA con FTs.....	18
1.5.2. DELLA regula la expresión de genes diana.....	20
2- Objetivos	25
3- Resultados y Discusión Capítulo 1	27
<i>Los receptores GID1 y las proteínas DELLA en el desarrollo temprano del fruto</i>	
3.1. Los transcritos de los receptores GID1 están diferencialmente expresados en pistilos y frutos.....	29
3.2. Las proteínas GID1 se localizan de forma específica en los tejidos del pistilo y fruto.....	33
3.3. Los receptores GID1 se co-localizan con las enzimas GA20ox1 y GA20ox2 y con la expresión de los genes de biosíntesis GA3ox1, GA3ox2 y GA3ox4 en las semillas.....	36
3.4. Los genes de las proteínas DELLA se co-localizan con los receptores GID1 en óvulos y semillas en desarrollo.....	40
3.5. Mutaciones de los genes GID1 provocan defectos de fertilidad y desarrollo del fruto.....	44
3.6. Las mutaciones en los genes GID1 y DELLA provocan alteraciones en el desarrollo del endocarpo.....	51
3.7. Discusión Capítulo 1	54
3.7.1. La expresión de los GID1 en los óvulos y las valvas es diferencial.....	54

3.7.2. Los GID1 y las DELLA se co-expresan en el pistilo durante la formación del fruto.....	56
3.7.3. Los receptores GID1 tienen redundancia parcial en la fertilidad y el crecimiento del fruto.....	58
4- Resultados y Discusión Capítulo 2.....	63
<i>Análisis transcriptómico del fruto e identificación de dianas directas de DELLA en fructificación</i>	
4.1. Análisis transcriptómico de los eventos tempranos en la formación del fruto.....	65
4.1.1. Diseño experimental del análisis transcriptómico.....	68
4.1.2. Análisis estadístico e identificación de los genes diferencialmente expresados durante el desarrollo temprano del fruto.....	70
4.1.3. Análisis de enriquecimiento de términos de Ontología Génica (GO).....	73
4.1.4. Búsqueda de FTs regulados por GAs e implicados en la formación del fruto.....	79
Meta-análisis de co-expresión de factores transcripcionales	
4.2. Análisis de los perfiles de expresión de los factores de transcripción con expresión diferencial a 0 hpa en el 4xdella.....	87
4.3. Identificación de dianas directas de DELLA en fructificación.....	97
4.4. Primera aproximación experimental para conocer el rol biológico en fructificación de las dianas directas de GAI.....	103
4.4.1. Estudio de la implicación en germinación y fructificación de PIL2 Phytochrome interacting factor 3- Like 2.....	105
4.4.2. Estudio de la implicación en germinación y fructificación de RBE.....	109
4.5. Discusión Capítulo 2	114
5- Conclusiones.....	117
6- Materiales y Métodos.....	121
6.1. Material vegetal y condiciones de crecimiento.....	123
6.2. Generación de líneas transgénicas DELLA-GUS.....	125
6.3. Ensayos de fructificación.....	126
6.4. Inducción de partenocarpia.....	127
6.5. Análisis de expresión génica por qPCR.....	127
6.6. Análisis Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....	131
6.7. Ensayos histoquímicos con β -glucuronidasa (GUS)	132

6.8. Procedimientos histológicos en resina y parafina	132
6.9. Hibridaciones in situ de ARN	132
6.9.1. Imbibición y montaje de bloques.....	133
6.9.2. Preparación de la sonda.....	133
6.9.3. Cuantificación de la sonda mediante 'dot blot'.....	134
6.9.4. Pre-hibridación.....	134
6.9.5. Hibridación y lavados.....	135
6.9.6. Inmunodetección.....	136
6.9.7. Observación de los resultados.....	136
6.10. Análisis transcriptómico mediante micromatrices.....	137
6.11. Ensayos con Dex de los pistilos de la línea cer6-2 4xdella pGAI:gai-1-GR.....	139
6.12. Ensayos de germinación y tratamientos con Dex y Chx en plántula.....	140
6.13. Ensayo de doble híbrido de levadura.....	141
7- Bibliografía.....	143
8. Anexos y Tabla Suplementarias.....	157