

RESUMEN

Los péptidos DEVIL/ROTUNDIFOLIA (DVL/RTFL) constituyen una familia de péptidos de pequeño tamaño codificados por la familia génica *DEVIL/ROTUNDIFOLIA (DVL/RTFL)* de 24 miembros en *Arabidopsis thaliana*. Estos genes fueron caracterizados por los fenotipos que confiere su sobreexpresión, que provoca cambios pronunciados en la morfología de la planta con hojas de roseta más redondeadas, plantas de menor estatura, peciolo cortos e inflorescencias compactas. Además, estos fenotipos afectan de un modo fascinante a la morfología de los frutos, que varía según qué miembro de la familia se sobreexpresen, demostrando tener un papel en el desarrollo de múltiples órganos de la planta.

También se ha visto que los péptidos DVL/RTFL se localizan en la membrana plasmática y que comparten homología en sus secuencias, con un dominio conservado en el extremo C-terminal, estando además ampliamente conservados en el mundo vegetal. Tanto su localización como dominio funcional conservado resultan ser esenciales para su actividad. Sin embargo y, a pesar de los fenotipos sorprendentes causados por la sobreexpresión de diferentes genes *DVL/RTFL*, las líneas de pérdida de función no aportan información sobre la función biológica de la familia *DVL/RTFL*.

En el laboratorio donde se ha realizado este trabajo, se ha avanzado en los últimos años en la caracterización de estos péptidos, su modo de interacción con la membrana celular y la determinación de sus patrones de expresión, así como en la identificación de mutantes de pérdida de función. Para continuar en estas direcciones, en este proyecto se generaron combinaciones de mutantes múltiples estables en diferentes genes *DVL/RTFL* combinando mutantes de inserción de T-DNA con mutantes generados por CRISPR/Cas9 (*dv13 dv15 dv16 dv17 dv14 rtf19 dv18 dv111 rtf11 dv119*). A pesar de que la pérdida de función de múltiples genes *DVL/RTFL* no mostró fenotipos morfológicos evidentes, análisis transcriptómicos y proteómicos apoyaron la hipótesis de la elevada redundancia génica entre los miembros de esta familia y de que podrían tener un papel en la regulación de procesos como el crecimiento y desarrollo del tubo polínico o el crecimiento distal de la célula.

Sin embargo, experimentos donde analizamos la germinación de polen, el crecimiento de tubo polínico o el desarrollo de pelos radiculares no mostraron que los péptidos DVL/RTFL afectaran de un modo significativo estos procesos, pero sí sugirieron que tienen un rol generalizado aportando estabilidad o robustez al proceso de morfogénesis vía elongación celular.

Comentado [CFM1]: Sta frase contradice justo la anterior

Adicionalmente se llevaron a cabo estudios de topología de membrana que permitieron confirmar su localización en la membrana plasmática, de tal manera que estos péptidos no se integraban en la membrana, sino que estarían asociados a su interfase. La posibilidad de que esta asociación se llevase a cabo a través de otras proteínas hizo que se comprobasen *in planta* interacciones de los péptidos DVL1 y DVL11 con proteínas candidatas identificadas en un escrutinio de doble híbrido de levadura y relacionadas con procesos de tráfico intra e intercelular, división y elongación celular. Su interacción confirmada con proteínas como SRC2, BSK6 o CDC48 llevó a estudiar la posible relación funcional con éstas y en especial con CDC48 por su implicación en procesos de división, expansión y diferenciación celular, sin obtener resultados concluyentes.

Los escasos resultados obtenidos en *Arabidopsis* nos condujo a estudiar el papel del único homólogo *DVL/RTFL* en *Marchantia polymorpha*. Tras generar y caracterizar líneas de pérdida de función y sobreexpresoras *MpDVL*, hemos podido confirmar la conservación funcional de los péptidos *DVL/RTFL* en especies de plantas tan alejadas evolutivamente, así como determinar que no se trata de péptidos esenciales para el desarrollo de la planta pero que sí parecen tener un papel en los procesos de morfogénesis vía elongación celular aportando robustez al sistema.

Este trabajo pone de manifiesto que sigue siendo necesario profundizar en el estudio de los péptidos *DVL/RTFL* para conocer el mecanismo por el cual participan en procesos de desarrollo de la planta y conocer con detalle su verdadera función biológica.