

INDICE	i
INDICE DE TABLAS	viii
INDICE DE FIGURAS	ix
INDICE DE ABREVIATURAS	xxi
RESUMEN	xxv
RESUM	xxvii
ABSTRACT	xxix

1-INTRODUCCIÓN.....	1
1.1- Importancia de la biotecnología.....	1
1.2- El concepto de estrés abiótico.....	5
1.2.1- El problema de la salinidad.....	6
1.2.2- El problema de la sequía.....	7
1.2.3- El problema de la temperatura.....	10
1.2.3.1- Proteínas de choque térmico.....	11
1.2.3.2- Factores de transcripción de choque térmico.....	12
1.2.3.3- Proteínas con elevada homología a proteínas inducibles por choque térmico.....	14
1.3- Efectos fisiológicos del estrés abiótico sobre las plantas.....	15
1.3.1- Estrés osmótico.....	16
1.3.2- Toxicidad iónica y desequilibrio electroquímico.....	17
1.3.3- Estrés oxidativo.....	18
1.3.4- Alteración en la homeostasis del pH	20
1.3.5- Deficiencia en la toma de K ⁺	21
1.3.6- Disminución del crecimiento.....	22
1.4. Métodos de tolerancia frente al estrés hídrico/osmótico.....	23
1.4.1- Producción de osmoprotectores.....	23
1.4.2- Cierre estomático.....	25
1.5- Estrategias para la identificación de genes involucrados en la tolerancia a estrés.....	28
1.5.1- Ciencias “Omicas”	28
1.5.2- Estrategias de genética directa.....	29
1.5.3- Estrategias de genética reversa.....	34
1.5.4- Expresión heteróloga en arabidopsis	34

1.6- <i>Arabidopsis thaliana</i> como sistema modelo para la identificación de genes responsables de la tolerancia a estrés abiótico en plantas.....	35
2- OBJETIVOS.....	
3- MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
3.1- Material biológico.....	39
3.1.1- <i>Arabidopsis thaliana</i>	39
3.1.1.1- Pérdida de función por inserción de T-DNA.....	39
3.1.1.2- Activación transcripcional.....	42
3.1.1.3- Ecotipos silvestres.....	43
3.1.1.4- Mutantes.....	44
3.1.2- <i>Nicotiana benthamiana</i>	45
3.1.3- <i>Escherichia coli</i>	45
3.1.4- <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	46
3.1.5- <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	46
3.2- Vectores de clonación y transformación.....	47
3.3- Medios de cultivo.....	52
3.3.1- Medio Murashige-Skoog para el crecimiento de <i>A. thaliana</i>	52
3.3.2- Medio para el crecimiento de bacterias.....	52
3.3.2.1- Medio LB (Luria-Bertani).....	52
3.3.2.2- Medio SOC (<i>Super Optimal broth with Catabolite repression</i>)..	52
3.3.2.3- Medio SOB (<i>Super Optimal Broth</i>).....	53
3.3.3- Medios para el crecimiento de levadura.....	53
3.3.3.1- Medio YPDA (<i>Yeast Peptone Dextrose Adenine</i>).....	53
3.3.3.2- Medio SD (<i>Synthetic Dextrose</i>).....	53
3.3.4- Sustancias termolábiles de selección.....	54
3.4- Manipulación y crecimiento de <i>A. thaliana</i>	55
3.4.1- Esterilización de semillas.....	55
3.4.1.1- Método húmedo.....	55
3.4.1.2- Método seco.....	55
3.4.2- Cultivo <i>in vitro</i> en medio sólido.....	56
3.4.3- Cultivo <i>in vitro</i> en medio líquido.....	56
3.4.4- Cultivo en invernadero.....	56
3.4.4.1- Solución nutritiva.....	57
3.4.5- Transformación genética mediante inmersión floral.....	57

3.4.5.1- Manipulación y obtención de líneas puras transgénicas T ₃	57
3.4.6- Rastreo de mutantes.....	58
3.5- Manipulación y crecimiento de <i>Nicotiana benthamiana</i>	59
3.5.1- Cultivo en invernadero.....	59
3.5.2- Transformación transitoria de <i>Nicotiana benthamiana</i>	60
3.6- Manipulación y crecimiento de <i>Escherichia coli</i>	61
3.6.1- Preparación y transformación de células competentes.....	61
3.6.1.1-Preparación de células competentes DH5 α para choque t \acute{e} rmico.....	61
3.6.1.2-Transformación de células competentes DH5 α por choque t \acute{e} rmico.	62
3.7- Manipulación y crecimiento de <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	62
3.7.1- Preparación y transformación de células competentes.....	62
3.7.1.1-Preparación de células competentes de <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	62
3.7.1.2- Transformación de <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	63
3.8- Manipulación y crecimiento de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	63
3.8.1- Preparación de células competentes para choque t \acute{e} rmico.....	63
3.8.2- Transformación de células competentes por el m \acute{e} todo de alta eficiencia.....	64
3.8.3- Transformación de células por el m \acute{e} todo “Lazy bones”.....	64
3.8.4- Ensayos de crecimiento en medio s \acute{o} lido.....	64
3.9- Aislamiento de \acute{a} cidos nucleicos.....	64
3.9.1- Extracci \acute{o} n a pequeña escala de ADN gen \acute{o} mico de <i>A. thaliana</i>	64
3.9.2- Aislamiento a gran escala de ADN gen \acute{o} mico de <i>A. thaliana</i>	65
3.9.3- Extracci \acute{o} n de ADN plasm \acute{i} dico de <i>E. coli</i>	66
3.9.4- Extracci \acute{o} n de ADN plasm \acute{i} dico de <i>S. cerevisiae</i>	66
3.9.5- Preparaci \acute{o} n de la genoteca de <i>A. thaliana</i> en c \acute{e} lulas de <i>E. coli</i>	67
3.9.6- Aislamiento de ARN de <i>A. thaliana</i>	67
3.10- An \acute{a} lisis de \acute{a} cidos nucleicos.....	68
3.10.1- Cuantificaci \acute{o} n de \acute{a} cidos nucleicos.....	68
3.10.2- Electroforesis de ADN en gel de agarosa.....	68
3.10.2.1- Purificaci \acute{o} n de ADN desde gel de agarosa.....	68
3.10.3- Electroforesis de ARN bajo condiciones no desnaturizantes.....	69

3.10.4- Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).....	69
3.10.4.1- Diseño de los oligonucleótidos.....	70
3.10.4.2- Purificación de productos de PCR.....	71
3.10.5- Digestión del ADN con endonucleasas de restricción.....	71
3.10.6- Ligación de moléculas de ADN.....	72
3.10.7- Comprobación de la presencia del T-DNA.....	72
3.10.7.1- Análisis Southern blot.....	72
3.10.7.2- Marcaje radioactivo de sondas.....	73
3.10.8- Análisis de la expresión génica.....	74
3.10.8.1- Síntesis de cDNA para PCR semicuantitativa y a tiempo real.....	74
3.10.8.2- RT-PCR semicuantitativa.....	74
3.10.8.3- qRT-PCR.....	74
3.10.8.4- Análisis de la expresión génica mediante micromatrices de oligonucleótidos.....	75
3.10.9- Diseño y obtención de las construcciones plasmídicas para experimentos de transformación de plantas y levaduras.....	83
3.10.9.1- Clonaje de la región genómica de <i>Candida tropicalis</i> en el vector binario pBIN19.....	83
3.10.9.2- Fusión del promotor del gen <i>HSR1</i> al gen delator de la β - glucuronidasa.....	84
3.10.9.3- Clonaje de la secuencia codificante del gen <i>HSR1</i> en el vector binario pGPTVII-UBQ10.....	85
3.10.9.4- Sistema de clonaje Gateway.....	86
3.10.9.5- Clonaje de la secuencia codificante del gen <i>HSR1</i> para el rastreo de doble híbrido en levadura.....	86
3.10.10- Secuenciación de ADN.....	87
3.11- Análisis de proteínas por Western blot.....	87
3.11.1- Preparación de minigeles.....	88
3.11.2- Preparación de la muestra.....	88
3.11.3- Electroforesis.....	88
3.11.4- Transferencia de proteínas desde gel a membrana.....	89
3.11.5- Tinción de proteínas transferidas a papel de membrana	90

3.11.6- Detección inmunológica de proteínas fijadas en papel de membrana	90
3.12-Rastreo de doble híbrido.....	91
3.13- Procedimientos utilizados para la caracterización fenotípica y fisiológica.....	91
3.13.1- Ensayos de germinación y crecimiento.....	91
3.13.2- Determinación de la tolerancia a la sequía.....	92
3.13.3- Determinación de la apertura estomática.....	92
3.13.4- Determinación del área y densidad estomática.....	93
3.13.5- Determinación del potencial osmótico de extracto de hoja.....	93
3.13.6- Determinación del contenido hídrico relativo.....	93
3.13.7- Determinación de cationes.....	94
3.13.8- Determinación de la concentración de prolina mediante un método colorimétrico.....	94
3.13.9- Determinación de parámetros fotosintéticos mediante equipo portátil de medición.....	95
3.14- Técnicas Histológicas.....	96
3.14.1- Inclusión de muestras en parafina.....	96
3.14.2- Obtención de cortes histológicos.....	97
3.15- Técnicas de imagen.....	97
3.15.1- Fotografía a bajo aumento.....	97
3.15.2- Microscopía óptica.....	97
3.15.2.1- Microscopía de campo brillante.....	98
3.15.2.2- Nomarski, microscopía diferencial de contraste de interferencia (DIC)	98
3.15.2.3- Microscopía de fluorescencia.....	98
3.15.3- Microscopía confocal.....	99
3.16- Ensayos de expresión del gen reportero GUS.....	99
3.16.1- Análisis cualitativo de actividad β -glucuronidasa mediante ensayo GUS.....	99
3.16.2- Análisis cuantitativo de actividad β -glucuronidasa mediante ensayo MUG.....	100
3.16.2.1- Extracción de proteínas.....	100
3.16.2.2- Cuantificación de proteínas por el método Bradford.....	101

3.16.2.3- Hidrólisis de MUG.....	101
3.16.2.4- Cuantificación de la actividad.....	101
3.17- Análisis estadísticos.....	102
3.17.1- Determinación estadística mediante la prueba “t” de Student.....	102
3.17.2- Determinación estadística del número de inserciones de T-DNA..	102
4.- RESULTADOS.....	103
4.1- GENÉTICA DIRECTA.....	103
4.1.1- Condiciones del rastreo.....	103
4.1.2- Rastreo primario para el aislamiento de mutantes tolerantes a NE..	104
4.1.3- Rastreo secundario para la confirmación de mutantes tolerantes a NE.....	106
4.1.4- Tolerancia a BASTA/kanamicina.....	106
4.1.5- Determinación del nivel de heterocigosis en los mutantes seleccionados.....	108
4.1.6- Tolerancia a noespermidina.....	109
4.1.7- Mutantes confirmados.....	113
4.1.8- Confirmación de la presencia de T-DNA en los mutantes y determinación del número de inserciones.....	114
4.2- EXPRESIÓN DE <i>CtHSR1</i> EN ARABIDOPSIS.....	120
4.2.1-Análisis bioinformático del factor de transcripción HSR1 de <i>Candida tropicalis</i>	120
4.2.2- Caracterización cualitativa de la funcionalidad del promotor de <i>CtHSR1</i> en arabidopsis.....	125
4.2.3- Caracterización cuantitativa de la funcionalidad del promotor de <i>CtHSR1</i>	131
4.2.4- Localización subcelular del factor HSR1 de <i>Candida tropicalis</i> expresado en plantas.....	133
4.2.5- Obtención de plantas transgénicas que expresan la región codificante del gen <i>CtHSR1</i> bajo diferentes promotores.....	135
4.2.5.1- Caracterización genética y fenotípica de plantas expresas del gen <i>HSR1</i> bajo su propio promotor.....	135
4.2.5.2- Caracterización genética y fenotípica de plantas sobreespresoras del gen <i>HSR1</i> bajo el promotor del gen <i>UBQ10</i>	138

4.2.5.3- Caracterización genética y fenotípica de plantas sobreexpresoras del gen <i>HSRI</i> bajo el control del promotor constitutivo 35S.....	141
4.2.6- Caracterización de la respuesta a Ácido Abscísico de las plantas que expresan el gen <i>HSRI</i> bajo su propia región reguladora.....	145
4.2.7- Cuantificación hormonal de las plantas que expresan el gen <i>HSRI</i> bajo su propia región reguladora.....	149
4.2.8- Caracterización de parámetros fotosintéticos en las plantas que expresan el gen <i>HSRI</i> bajo su propia región reguladora.....	151
4.2.9- Caracterización del balance hídrico de las plantas que expresan el gen <i>HSRI</i> bajo su propia región reguladora.....	153
4.2.10- Caracterización del ajuste osmótico de las plantas que expresan el gen <i>HSRI</i> bajo su propia región reguladora.....	155
4.2.11- Análisis transcriptómico de las plantas que expresan el gen <i>HSRI</i> bajo su propia región reguladora.....	162
4.2.12- Rastreo de doble híbrido en levadura para la identificación de interactores del factor de transcripción <i>HSRI</i> en arabisidopsis.....	171
5.- DISCUSIÓN.....	177
5.1- El rastreo de mutantes.....	177
5.2- Expresión heteróloga del gen <i>CtHSRI</i> en arabisidopsis.....	180
5.2.1- Tolerancia a la sequía.....	182
5.2.2- Respuesta hormonal.....	183
5.2.3- Apertura estomática.....	184
5.2.4- Balance hídrico y ajuste osmótico.....	185
5.2.5- Respuesta transcripcional.....	186
5.2.6- Modelo para la tolerancia a la sequía mediada por el gen <i>CtHSRI</i> ...	189
6- CONCLUSIONES.....	191
6.1- Genética directa.....	191
6.2- Expresión del factor <i>CtHSRI</i> en arabisidopsis.....	191
7.- BIBLIOGRAFÍA.....	195
8.- ANEXOS.....	219

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Crecimiento de la población mundial durante el periodo comprendido entre 1950 y 2050. Población mundial, desglosada por principales grupos de desarrollo, zonas y por variante de proyección (ONU, 2007).

Tabla 1.2. Tabla 1.2. Definición gradual del nivel de sequia (Adaptada de Falkenmark y Widstrand, 1992).

Tabla 3.1. Reactivos necesarios en una reacción de PCR.

Tabla 3.2. Longitudes de onda de excitación y emisión (nm) para diferentes moléculas empleadas en este trabajo.

Tabla 4.1.1. Colecciones, número de líneas y concentración óptima de norespermidina empleados en el rastreo primario de mutantes.

Tabla 4.1.2. Mutantes putativos (población S1) identificados en el rastreo primario de tolerancia a norespermidina. Se muestra entre paréntesis el porcentaje de individuos seleccionados, respecto del total de líneas empleadas.

Tabla 4.1.3. Mutantes putativos marcados (población S2) identificados en el rastreo secundario de tolerancia a BASTA/Kanamicina.

Tabla 4.1.4. Número de mutantes confirmados (población S2) en el rastreo secundario de tolerancia a NE y a BASTA/Kanamicina.

Tabla 4.2.1. Resultado de la búsqueda en la base de datos del TAIR, de proteínas con homología de secuencia al DBD del HSR1 mediante Blastp.

Tabla 4.2.2. Valores de tasa de fijación neta de CO₂ (An, mmol.m⁻².s⁻¹), conductividad estomática (gs, mol.m⁻².s⁻¹), tasa de transpiración (E, mmol.m⁻².s⁻¹) y eficiencia cuántica efectiva del PSII (PhiPS2) en plantas de *Arabidopsis thaliana* que expresan el gen HRS1 y su control silvestre COL-0. Cada valor es media de 5 determinaciones en plantas diferentes ± SE. * indica diferencias significativas (P≤0,05), de acuerdo con la prueba " t " de Student.

Tabla 4.2.3. Valores de tasa de fijación neta de CO₂ (An, mmol.m⁻².s⁻¹), conductividad estomática (gs, mol.m⁻².s⁻¹), tasa de transpiración (E, mmol.m⁻².s⁻¹) y eficiencia cuántica efectiva del PSII (PhiPS2) en mutantes de pérdida de función del gen WRKY33 en *Arabidopsis thaliana* y su control silvestre COL-0. Cada valor es media de 10 determinaciones en plantas diferentes ± SE. * indica diferencias significativas (P≤0,05), de acuerdo con la prueba " t " de Student.

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Perspectiva en la demanda mundial de alimentos entre el periodo comprendido entre el 1964 y el 2030 (A) y perspectiva de la producción mundial de alimentos entre el periodo comprendido entre el 1961 y el 2030 (B) (FAO, 2002).

Figura 1.2. Perspectivas de cosechas y situación alimentaria (FAO, 2011b).

Figura 1.3. Superficie agrobiotecnológica mundial, 1996-2010 (James, 2010).

Figura 1.4. Mapa mundial mostrando las principales causas de degradación del suelo (FAO, 2007a).

Figura 1.5. Mapa mundial mostrando los suelos afectados por diferentes tipos y niveles de contaminación salina (www.clubgreen.nl).

Figura 1.6. Mapa mundial mostrando la distribución geográfica de los suelos con escasez de agua, desde súper áridos hasta semi húmedos (MA, 2005).

Figura 1.7. Mecanismos de acción y respuesta al estrés térmico (Adaptada de Sachin y col., 2007).

Figura 1.8. Elemento HSE de unión al ADN (Sorger, 1991).

Figura 1.9. Estructura de los HSF y de los dominios presentes en los factores de la clase A, B y C de arábidopsis. DBD: dominio de unión a ADN. HRA/B: dominio de trimerización. NLS: dominio de localización nuclear. AHA: dominio de activación transcripcional. NES: dominio de exportación nuclear (Adaptada de Nover y col., 2001).

Figura 1.10. Modelo de interacción entre los trímeros formados entre los HSF y la secuencia diana de los HSE (Adaptada de Morimoto y col., 1990).

Figura 1.11. Funciones de los genes de respuesta y tolerancia al estrés, inducidos por sequía (Adaptada de Shinozaki y Yamaguchi-Shinozaki, 2007).

Figura 1.12. Modelo de señalización y respuesta al estrés oxidativo (Adaptada de Mittler, 2002).

Figura 1.13. Metabolismo de la prolina indicando las enzimas implicadas en la síntesis y en la degradación de este aminoácido (Adaptado de Motoaki y col., 2007; Funck y col., 2010; Szabados y Savoure, 2010).

Figura 1.14. Mecanismo de apertura y cierre estomático mediado por ácido abscísico (Adaptada de Tae-Houn y col., 2010).

Figura 1.15. Vías de señalización del cierre estomático mediado por ácido abscísico y por ácido jasmónico (Adaptado de Munemasa 2007).

Figura 1.16. Distribución geográfica de *Arabidopsis thaliana*. Los puntos destacados en rojo indican lugares donde se han aislado plantas de esta especie. Modificado de Redei (1970).

Figura 3.1. T-DNA insertado mediante transformación por agroinfiltración en el ecotipo silvestre WS-2 de *Arabidopsis thaliana*, en la colección donada al NASC por el Dr. Ken Feldmann (Forsthoefel y col., 1992).

Figura 3.2. Mapa de restricción del plásmido pBR322, necesario para la realización del rescate plasmídico en los mutantes de la colección de Feldmann (<http://en.wikipedia.org/wiki/PBR322>).

Figura 3.3. T-DNA insertado mediante transformación por agroinfiltración en el ecotipo silvestre WS-4 de *Arabidopsis thaliana*, en la colección donada al NASC por el Dr. Georges Pelletier (Bouchez y col., 1993).

Figura 3.4. Plásmido pSKI015 mostrando el T-DNA insertado mediante transformación por agroinfiltración en los ecotipos silvestres COL-7, COL-2 y C-24 de *Arabidopsis thaliana*, en la colección donada al NASC por el Dr. Detlef Weigel, los Drs. C. Somerville y W. Scheible, y los Drs. H. Koiwa, R. Bressan y S. Yokoi, respectivamente (Weigel y col., 2000).

Figura 3.5. Plásmido multicopia YEp351 para la expresión de genes en levadura (imagen extraída de <https://benchling.com/benchling/yeast-plasmids/yep351/>).

Figura 3.6. Plásmido binario pBin19 para la transformación de arabisopsis (imagen extraída de <http://edoc.hu-berlin.de/dissertationen/jacob-daniela-2003-07-15/HTML/chapter6.html>).

Figura 3.7. Plásmido pCR8/GW/TOPO para el clonaje de fragmentos de ADN por recombinación mediante el sistema GATEWAY (<http://www.b2b.invitrogen.com>).

Figura 3.8. Plásmido binario pMDC32 para la transformación de arabisopsis, que emplea el sistema de clonaje GATEWAY, por recombinación con el vector TOPO (<http://genocon.org>).

Figura 3.9. Esquema del casete de transformación perteneciente al vector binario pMDC43 para la transformación de arabisopsis. Se trata de un plásmido que emplea el sistema de clonaje GATEWAY, por recombinación con el vector TOPO (Curtis y Ueli, 2003).

Figura 3.10. Esquema del casete de transformación perteneciente al vector binario

pMDC83 para la transformación de arabisidopsis. Se trata de un plásmido que emplea el sistema de clonaje GATEWAY, por recombinación con el vector TOPO (Curtis y Ueli, 2003).

Figura 3.11. Plásmido pGPTVII/pUBQ10 para el clonaje de fragmentos de ADN bajo el control del promotor de ubiquitina 10 (Imagen cedida por el Prof. J. Kudla).

Figura 3.12. Plásmido binario pCAMBIA1303 empleado en la transformación de arabisidopsis (<http://www.yrgene.com>).

Figura 3.13. Plásmido pGBKT7 empleado en el ensayo de doble híbrido en levadura (http://catalog.takara-bio.co.jp/product/basic_info.php).

Figura 3.14. Plásmido pACT2, empleado en el ensayo de doble híbrido en levadura (imagen extraída de <https://www.addgene.org/11343/>).

Figura 3.15. Diagrama del rastreo realizado en el presente trabajo. Observamos los apartados de los que consta un rastreo de mutantes de estas características.

Figura 3.16. Esquema correspondiente a la sección transversal de una hoja de *N. benthamiana* (<http://trabajandoporunmundoverde.blogspot.com.es>).

Figura 3.17. Esquema del método de clonaje de la fusión génica entre diferentes fragmentos del promotor el gen HSR1 al gen delator de la β -glucuronidasa. A) Esquema del clonaje inicial en el plásmido binario pBIN19. B) Esquema del clonaje de un fragmento de 2000pb del promotor de CtHSR1 y el gen GUS. C) Esquema del clonaje del promotor completo de CtHSR1 y el gen GUS.

Figura 3.18. Esquema del montaje para la realización de la transferencia de proteínas a filtros de membrana.

Figura 3.19. Diagrama de la primera reacción que tiene lugar durante la determinación de la concentración de prolina mediante el método colorimétrico.

Figura 3.20. Diagrama de la segunda reacción que tiene lugar durante la determinación de la concentración de prolina mediante el método colorimétrico.

Figura 4.1.1. Germinación en medio MS tras 7 días de cultivo, en placas suplementado con 0 (A), 3,5 (B), 4 (C), 4,5 (D), 5 (E) y 6 (F) mM de norespermidina para la colección del Dr. Chris Somerville y el Dr. Wolf Scheible.

Figura 4.1.2. Mutante putativo aislado en el rastreo primario a los 6 días de cultivo en medio MS suplementado con 6mM de NE para la colección de C. Somerville y W. Scheible.

Figura 4.1.3. Germinación en medio de cultivo MS de distintas líneas mutantes de la colección de K. Feldmann y su control silvestre (WS-2).

Figura 4.1.4. Germinación en medio de cultivo MS suplementado con el herbicida BASTA, de distintas líneas mutantes de la colección de INRA-Versailles tolerantes a NE (I1, I2, I34, I4, I3, I6, I170) y su control silvestre (WS-4).

Figura 4.1.5. Relación de tolerancia a BASTA/kanamicina, en las líneas mutantes seleccionadas para cada colección de mutantes.

Figura 4.1.6. Germinación en medio MS suplementado con 4mM de NE a los 7 días tras la siembra, de dos mutantes tolerantes a norespermidina (NE) y sus controles, para la colección de Weigel (Mutante W14 y su control silvestre COL-7) y para la colección de Feldmann (Mutante F9 y su control silvestre WS-2).

Figura 4.1.7. Porcentaje de germinación en medio MS suplementado con norespermidina (4mM) de las líneas mutantes seleccionadas para la colección de Somerville, y su control silvestre (COL-2), tras 5 días de cultivo. Cada valor representa la media \pm SE de 4 determinaciones. *

indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.1.8. Porcentaje de germinación en medio MS suplementado con norespermidina (4mM) de las líneas mutantes seleccionadas para la colección de Feldmann, y su control silvestre (WS-2), tras 7 días de cultivo. Cada valor representa la media \pm SE de 4 determinaciones. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.1.9. Porcentaje de germinación en medio MS suplementado con norespermidina (4mM) de las líneas mutantes seleccionadas para la colección de INRA-Versailles, y su control silvestre (WS-4), tras 7 días de cultivo. Cada valor representa la media \pm SE de 4 determinaciones. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.1.10. Porcentaje de germinación en medio MS suplementado con norespermidina (4mM) de las líneas mutantes seleccionadas para la colección de Weigel, y su control silvestre (COL-7), tras 8 días de cultivo. Cada valor representa la media \pm SE de 4 determinaciones. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.1.11. A) Análisis Southern blot de los candidatos seleccionados para la colección de C. Somerville y W. Scheible, empleando la sonda 35S. B) Análisis Southern blot de los candidatos seleccionados para la colección de C. Somerville y W. Scheible, empleando la sonda BAR. COL-2: Control silvestre.

Figura 4.1.12. Análisis Southern blot de los candidatos seleccionados para la colección de INRA-Versailles, empleando la sonda GUS. WS-4: Control silvestre.

Figura 4.1.13. Análisis Southern blot de los candidatos seleccionados para la colección de Feldmann, empleando la sonda NOS. WS-2: Control silvestre.

Figura 4.1.14. Análisis Southern blot de los candidatos seleccionados para la colección de Weigel, empleando la sonda BAR. COL-7: Control silvestre. M: Marcador 1Kb. A: 1 minuto de exposición, B: 3 minutos de exposición.

Figura 4.1.15. Diferentes posibilidades para la inserción del T-DNA en la colección de Weigel, Somerville y Scheible (A) en el genoma. B) una sola inserción; C) dos inserciones en sentido opuesto “tipo 1”; D) dos inserciones en el mismo sentido; y E) dos inserciones en sentido opuesto “tipo 2”.

Figura 4.2.1. Estructura de la proteína codificada por el gen *HSR1* de *Candida tropicalis*, según la base de datos de Pfam (<http://pfam.xfam.org/>), formada solamente por un dominio HSF. En la parte superior se muestran el tamaño de la proteína en aminoácidos.

Figura 4.2.2. Alineamiento múltiple del dominio de unión a ADN (DBD) de los factores de transcripción inducibles por choque térmico en arábidopsis con las proteínas HSF1 de levadura y HSR1 de *Candida tropicalis*. Los colores indican las propiedades fisicoquímicas de las proteínas; el rojo, verde y azul corresponden a residuos hidrofóbicos, hidrofílicos y polares con carga, respectivamente. El asterisco (*) indica si hay alineamiento correcto entre los residuos, los dos puntos (:) indican residuos superpuestos con propiedades estructurales y fisicoquímicas similares, el punto (.) indica que no hay superposición entre todas las proteínas alineadas y la línea (-) indica que en esa posición no existen aminoácidos para ser alineados.

Figura 4.2.3. Alineamiento múltiple de los factores de transcripción inducibles por choque térmico en arábidopsis, con el factor HSF1 de levadura y el HSR1 de *Candida tropicalis*, mostrando la región perteneciente al dominio de trimerización. Los colores indican las propiedades fisicoquímicas de las proteínas; el rojo, verde y azul corresponden a residuos hidrofóbicos, hidrofílicos y polares con carga, respectivamente. El asterisco (*) indica si hay alineamiento correcto entre los residuos, los dos puntos (:) indican residuos superpuestos con propiedades estructurales y fisicoquímicas similares, el punto (.) indica que no hay superposición entre todas las proteínas alineadas y la línea (-) indica que en esa posición no existen aminoácidos para ser alineados.

Figura 4.2.4. Región genómica de 5,8kb, aislada en un rastreo de una genoteca para la identificación de genes de halotolerancia (modificado de Ali y col., 2001).

Figura 4.2.5. Análisis cualitativo de la expresión del gen GUS, bajo diferentes fragmentos reguladores de 2000 (A-F) y 3000 (G-L) pares de bases, del promotor del gen *HSR1* de *Candida tropicalis* tras 7 días de desarrollo. A, E, F, H, J y L son hipocotilos; B y D muestran raíces; C, G, I y K muestran cotiledones.

Figura 4.2.6. Análisis cualitativo de la expresión del gen GUS, bajo el promotor completo de 3000 pares de bases del gen *HSR1* de *Candida tropicalis* en diferentes estadios de desarrollo.

Figura 4.2.7. Observación de la expresión del gen *GUS* bajo el promotor del gen *HSR1* de *Candida tropicalis* en raíz de arábidopsis mediante la técnica Nomarsky. A) Esquema de visualización de una sección transversal de raíz de arábidopsis. B) Fotografía Nomarsky de la sección longitudinal de raíz de arábidopsis con señal GUS. La barra indica una longitud de 50µm.

Figura 4.2.8. Observación al microscopio de la expresión del gen *GUS* bajo el promotor del gen *HSR1* de *Candida tropicalis* en secciones transversales de tallo de arábidopsis. A) Esquema de una sección transversal de tallo floral en arábidopsis (Boyko y col., 2006). B) Sección transversal de tallo de arábidopsis de una línea control tras la realización de un ensayo de tinción GUS. C) Sección transversal de tallo de arábidopsis de una línea que expresa el gen *uidA* bajo el control del promotor de *Candida*, tras la realización de un ensayo de tinción GUS.

Figura 4.2.9. Observación al microscopio de la expresión del gen *GUS* bajo el promotor del gen *HSR1* de *Candida tropicalis* en secciones transversales de hipocotilo de arábidopsis. A: estructura celular de una sección de hipocotilo de arábidopsis (Ilegems y col., 2010). B: Sección transversal de hipocotileo de arábidopsis de una línea que expresa el gen *GUS* bajo el control del promotor de *CtHSR1*, tras la realización del ensayo histoquímico. Ph: floema, xy: xilema, p: periciclo, e: endodermis, c: cambium.

Figura 4.2.10. Análisis cuantitativo de la expresión del gen *GUS* inducido por el promotor de 3000 pares de bases del gen *HSR1* de *Candida*, bajo diferentes estímulos como NaCl, manitol y calor. Cada valor representa la media \pm SE de 3 replicas técnicas y 3 biológicas. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.11. Análisis cualitativo de la localización subcelular del gen *HSR1* de

Candida tropicalis, mediante microscopia confocal en células epidérmicas de *Nicotiana benthamiana*, transformadas con la construcción pMDC83-*HSR1*. Se muestra de izquierda a derecha la fluorescencia debida a la tinción de núcleos con DAPI, la fluorescencia de la proteína GFP, las fotografías tomadas en rango visible, y finalmente la combinación de las tres anteriores. Las barras indican una longitud de 50 μ m.

Figura 4.2.12. Electroforesis en gel de agarosa del producto de una PCR semicuantitativa del transgén *CtHSR1* para las líneas que expresan el gen *HSR1* bajo toda su región reguladora. COL-0: control silvestre. En esta reacción se ha utilizado como control endógeno el gen *PP2AA3*, uno de los tres genes que codifican la subunidad reguladora de 65kDa de la proteína fosfatasa PP2A. El producto de PCR fue amplificado durante 30 ciclos.

Figura 4.2.13. Caracterización fenotípica en relación con la tolerancia a sequia en las líneas que expresan el gen *HSR1* bajo toda su región reguladora, respecto a su control silvestre. A) indica el peso fresco en condiciones control. B) indica el peso seco en condiciones control. C) indica el peso fresco tras el tratamiento de sequia. D) indica el peso seco tras el tratamiento de sequia. E) fotografía del aspecto de las plantas en condiciones control, antes de la toma de datos y F) fotografía del aspecto de las plantas tras el tratamiento de sequia, antes de la toma de datos. Cada valor representa la media \pm SE de 3 replicas técnicas y 3 biológicas. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.14. Análisis de aparición de cotiledones verdes tras la germinación para las líneas que expresan el gen *HSR1* bajo toda su región reguladora. Cada valor representa la media \pm SE de 4 determinaciones. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.15. Electroforesis en gel de agarosa del producto de una PCR semicuantitativa del transgén *CtHSR1* para las líneas que expresan el gen *HSR1* bajo el promotor de ubiquitina10. COL-0: control silvestre. En esta reacción se ha utilizado como control endógeno el gen *PP2AA3*, uno de los tres genes que codifican la subunidad reguladora de 65kDa de la proteína fosfatasa PP2A. El producto de PCR fue amplificado durante 30 ciclos.

Figura 4.2.16. Caracterización fenotípica en relación con la tolerancia a sequia en las líneas que expresan el gen *HSR1* bajo el promotor de ubiquitina10, respecto a su

control silvestre. A) indica el peso fresco en condiciones control. B) indica el peso seco en condiciones control. C) indica el peso fresco tras el tratamiento de sequia. D) indica el peso seco tras el tratamiento de sequia. E) fotografía del aspecto de las plantas en condiciones control, antes de la toma de datos y F) fotografía del aspecto de las plantas tras el tratamiento de sequia, antes de la toma de datos. Cada valor representa la media \pm SE de 3 replicas técnicas y 3 biológicas. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.17. Análisis de aparición de cotiledones verdes tras la germinación para las líneas que expresan el gen *HSRI* bajo el control del promotor del gen *UBQ10*. Cada valor representa la media \pm SE de 4 determinaciones. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.18. Electroforesis en gel de agarosa del producto de una PCR semicuantitativa del transgén *CtHSRI* para las líneas que expresan el gen *HSRI* bajo el promotor constitutivo 35S. COL-0: control silvestre. En esta reacción se ha utilizado como control endógeno el gen *PP2AA3*, uno de los tres genes que codifican la subunidad reguladora de 65kDa de la proteína fosfatasa PP2A. El producto de PCR fue amplificado durante 25 ciclos.

Figura 4.2.19. Caracterización fenotípica en relación con la tolerancia a sequia en las líneas que expresan el gen *HSRI* bajo el promotor constitutivo 35S, respecto a su control silvestre. A) indica el peso fresco en condiciones control. B) indica el peso seco en condiciones control. C) indica el peso fresco tras el tratamiento de sequia. D) indica el peso seco tras el tratamiento de sequia. E) fotografía del aspecto de las plantas en condiciones control, antes de la toma de datos y F) fotografía del aspecto de las plantas tras el tratamiento de sequia, antes de la toma de datos. Cada valor representa la media \pm SE de 3 replicas técnicas y 3 biológicas. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.20. Análisis de aparición de cotiledones verdes tras la germinación para las líneas que expresan el gen *HSRI* bajo el promotor constitutivo 35S. Cada valor representa la media \pm SE de 4 determinaciones. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.21. Ensayo de germinación en presencia de diferentes concentraciones

de ácido abscísico para las líneas que expresan el gen *HSRI* bajo su propio promotor, y su control silvestre COL-0. Las medidas de tomaron a los 6 días después de la siembra. Cada valor representa la media \pm SE de 4 determinaciones. En ningún caso se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.22. Ensayo de crecimiento en presencia de 0 y 10 μ M de ácido abscísico, para las líneas que expresan el gen *HSRI* bajo su propio promotor, y su control silvestre COL-0 durante 21 días de crecimiento. Cada valor representa la media \pm SE de 4 determinaciones. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su tratamiento control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.23. Ensayo de apertura estomática en ausencia y presencia de ácido abscísico, para las líneas que expresan el gen *HSRI* bajo su propio promotor. Cada valor representa la media \pm SE de 4 determinaciones biológicas. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a las plantas control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.24. Medidas de la densidad y área estomática en condiciones normales, para las líneas que expresan el gen *HSRI* bajo su propio promotor. Cada valor representa la media \pm SE de 4 determinaciones biológicas. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a las plantas control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.25. Contenido en ABA de las líneas que expresan el gen *HSRI* bajo su propio promotor, respecto a su control silvestre COL-0. Cada valor representa la media \pm SE de 3 determinaciones biológicas, de COL-0 o de tres líneas independientes. No se encontraron diferencias significativas ($P \leq 0,05$), de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.26. Contenido en JA de las líneas que expresan el gen *HSRI* bajo su propio promotor, respecto a su control silvestre COL-0. Cada valor representa la media \pm SE de 3 determinaciones biológicas, de COL-0 o de tres líneas independientes. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$), de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.27. Contenido en IAA de las líneas que expresan el gen *HSRI* bajo su propio promotor, respecto a su control silvestre COL-0. Cada valor representa la media \pm SE de 3 determinaciones biológicas, de COL-0 o de tres líneas independientes. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$), de acuerdo con la

prueba "t" de Student.

Figura 4.2.28. Medida del potencial osmótico en extractos de hojas de arabisopsis para las líneas que expresan el gen *HSRI* bajo su propio promotor y su control silvestre COL-0. Cada valor representa la media \pm SE de 3 replicas técnicas y 3 biológicas. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.29. Medida del contenido hídrico relativo en hojas de arabisopsis para las líneas que expresan el gen *HSRI* bajo su propio promotor y su control silvestre COL-0. Cada valor representa la media \pm SE de 3 replicas técnicas y 3 biológicas. * indica diferencias significativas

($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.30. Medida del contenido en sodio (A) y potasio (B), de extractos de hojas de arabisopsis en condiciones normales, para las líneas que expresan el gen *HSRI* bajo su propio promotor y su control silvestre COL-0. Cada valor representa la media \pm SE de 3 replicas técnicas y 3 biológicas. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.31. Medida del contenido en azúcares totales en extracto de hojas de arabisopsis para la línea 14-3 que expresa el gen *HSRI* bajo su propio promotor y su control silvestre COL-0. Se muestra un cromatograma típico de mediciones por HPLC, con los picos de absorción a diferentes tiempos (RT minutos), y en su interior se muestra una tabla con los datos obtenidos para cada línea analizada (mM). Estos datos son media \pm SE de 3 determinaciones biológicas.

Figura 4.2.32. Medida de la concentración de prolina en las líneas que expresan el gen *HSRI* bajo su propio promotor y su control silvestre COL-0. Cada valor representa la media \pm SE de 3 replicas técnicas y 3 biológicas. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.33. Medida de la concentración de prolina tras tratamiento de sequia, en las líneas que expresan el gen *HSRI* bajo su propio promotor y su control silvestre COL-0. Cada valor representa la media \pm SE de 3 replicas técnicas y 3 biológicas. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.34. Análisis de expresión mediante qRT-PCR de los genes involucrados en el metabolismo de prolina, en las líneas que expresan el gen *HSRI* bajo su propio

promotor y su control silvestre COL-0. Cada valor representa la media \pm SE de 3 replicas técnicas y 3 biológicas. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.35. Comparación de los niveles de expresión de los genes de síntesis de prolina *P5CS1* y *P5CR*, respecto al nivel de expresión del gen de degradación de prolina *PDH2* en las líneas que expresan el gen *HSR1* bajo su propio promotor, y su control silvestre COL-0. Cada valor representa la media \pm SE de 3 replicas técnicas y 3 biológicas. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.36. Clasificación funcional de las categorías sobrerrepresentadas, como resultado del análisis transcriptómico de las líneas que expresan el gen *HSR1* bajo su propio promotor.

Figura 4.2.37. Validación mediante PCR cuantitativa a tiempo real de algunos genes inducidos mediante el análisis transcriptómico de las líneas que expresan el gen *HSR1* bajo su propio promotor. Cada valor representa la media \pm SE de 3 replicas técnicas y 3 biológicas. * indica diferencias significativas ($P \leq 0,05$) respecto a su control, de acuerdo con la prueba "t" de Student.

Figura 4.2.38. Comparación mediante diagramas de Venn de los genes inducidos, obtenidos como resultado del análisis transcriptómico de las líneas que expresan el gen *HSR1* bajo su propio promotor, con los genes inducidos y reprimidos bajo tratamiento osmótico, inducido durante 3h con 300mM de manitol.

Figura 4.2.39. Comparación mediante diagramas de Venn de los genes inducidos, obtenidos como resultado del análisis transcriptómico de las líneas que expresan el gen *HSR1* bajo su propio promotor, con los genes inducidos y reprimidos, bajo tratamiento oxidativo inducido por metil viológeno 10 μ M durante 3h.

Figura 4.2.40. Comparación mediante diagramas de Venn de los genes inducidos, obtenidos como resultado del análisis transcriptómico de las líneas que expresan el gen *HSR1* bajo su propio promotor, con los genes inducidos y reprimidos, bajo tratamiento con calor inducidos durante 3h a 38°C.

Figura 4.2.41. Comparación mediante diagramas de Venn de los genes inducidos, obtenidos como resultado del análisis transcriptómico de las líneas que expresan el gen *HSR1* bajo su propio promotor, con los genes inducidos (A) y reprimidos (B), bajo tratamiento con calor, osmótico y oxidativo, inducidos mediante los

tratamientos anteriormente indicados.

Figura 4.2.42. Comparación mediante diagrama de Venn de los genes inducidos, obtenidos como resultado del análisis transcriptómico de las líneas que expresan el gen *HRSR1* bajo su propio promotor, con los genes inducidos mediante la pérdida de función del gen *WRKY33*, en arabidopsis.

Figura 4.2.43. Western blot para las colonias de la cepa AH109 que expresan el gen *CtHRSR1*, mediante incubación con anticuerpos específicos para el epitopo myc. Se muestra también la tinción con Direct Blue, correspondiente con el control de carga.

Figura 4.2.44. Ensayo de crecimiento en medio SD solido selectivo de las líneas control y el clon DH41 obtenido mediante el rastreo de doble híbrido en levadura. SD-2: Medio solido SD sin leucina y triptófano. SD-3: Medio solido SD sin leucina, triptófano e histidina. SD-4: Medio SD solido sin leucina, triptófano, histidina y adenina.

Figura 4.2.45. Estructura de los dominios proteicos presentes en la proteína de 763 aminoácidos codificada por el gen At1g33680 de arabidopsis, según la base de datos de PROSITE (<http://prosite.expasy.org/>).

Figura 4.2.46. Ensayo de crecimiento en medio solido, de las líneas control y el clon DH41 obtenido mediante el rastreo de doble híbrido y el ensayo de doble híbrido dirigido con el clon DH41 en levadura. SD-2: Medio solido SD sin leucina y triptófano. SD-3: Medio solido SD sin leucina, triptófano e histidina. SD-4: Medio SD solido sin leucina, triptófano, histidina y adenina.

Figura 5.1. Vías de señalización mediadas a través de ácido jasmónico y ácido abscísico. Extraído y adaptado de Shinozaki y Yamaguchi-Shinozaki, 2007.

Figura 5.2. Mecanismo de acción propuesto para la tolerancia a la sequía mediada por el *CtHRSR1*.

INDICE DE ABREVIATURAS

35S	Gen de expresión constitutiva del virus del mosaico de la coliflor
AAA	Bombas de Protones asociadas a actividades celulares
ABA	Acido Abscísico
abi2-1	Mutante de una proteína fosfatasa insensible a ácido abscísico
AcLiTE	Acetato de litio, Tris-EDTA
ADN	Ácido desoxirribonucleico
APS	Persulfato de amonio
APX1	Isoforma citosólica de una ascorbato peroxidasa
ARN	Ácido ribonucleico
AtGolS2	Galactinol sintasa de <i>Arabidopsis thaliana</i>
ATP	Adenosin trifosfato
BAR	Gen de resistencia a BASTA
BASTA	Glufosinato de amonio
BLAST	Herramienta de alineamiento de secuencias
bZIP	Dominio básico de cremallera de leucinas
CaMV	Virus del mosaico de la coliflor
CAT1	Isoenzima catalasa
CDK	Kinasa dependiente de ciclina
cDNA	DNA complementario
CNGC	Canales activados por nucleótidos cíclicos
COI1	Receptor de ácido jasmónico
coi1	Mutante de pérdida de función del receptor de ácido jasmónico
Col	Ecotipo silvestre Columbia de <i>Arabidopsis</i>
CTAB	Bromuro de cetiltrimetilamonio
DAPI	Fluoroforo 4',6-diamidino-2-fenilindol
dATP	Desoxiadenosina trifosfato
DBD	Dominio de unión a ADN
dCTP	Desoxicitidina trifosfato
dGTP	Desoxiguanosina trifosfato
DIN6	Gen inducible por oscuridad, asociado a senescencia en <i>Arabidopsis thaliana</i>
DMSO	Dimetil sulfoxido
DTE	Ditioeritritol
DTT	Ditiotreitol

dTTP	Desoxitimidina trifosfato
EDTA	Ácido etilen-diamino-tetracético
EMS	Etil metano sulfonato
ERD15	Gen inducible por deshidratación en <i>Arabidopsis thaliana</i>
EtAcNa	Etanol Acetato de Na ⁺
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación
GAL4	Factor de transcripción inducible por galactosa
GFP	Proteína verde fluorescente
GR1	Isoforma plastidial de una glutation reductasa
GUS	β glucuronidasa
H ⁺ -ATPasa	Bomba de Protones Protón-ATPasa
HPT II	Higromicina fosfotransferasa II
HSE	Elemento de unión de los factores de transcripción inducibles por choque térmico
HSF	Factor de transcripción inducible por choque térmico
HSF1	Factor de transcripción inducible por choque térmico de levadura
HSP	Proteínas inducibles por choque térmico
HSR	Proteínas con elevada homología a las proteínas inducibles por choque térmico
HSR1	Factor de transcripción relacionado con los HSF de <i>Candida tropicalis</i>
HTH	Dominio proteico de doble hélice
IAA	Ácido indolacético
ICK1	Inhibidor de kinasas dependientes de ciclinas
INRA	Instituto Nacional de Investigación Agronómica (Francia)
J11	Proteína chaperona tipo J
JA	Ácido jasmónico
Kan	Kanamicina
KAT1	Transportador de potasio en <i>Arabidopsis thaliana</i>
lap3	Mutante de fosfatasa ácida 3 de baja actividad
LB	Borde izquierdo del T-DNA
LB	Medio rico de crecimiento de bacterias
LEA	Proteína abundante en la embriogénesis tardía
MAE	Tampón de electroforesis de RNA
MAP	Proteína quinasa activada en la mitosis
MES	Ácido 2-(N-morfolino) etano sulfónico

MOPS	Ácido 2-(N-morfolino) propanosulfónico
mRNA	ARN mensajero
MS	Medio de cultivo Murashige y Skoog
mtlD	Gen que codifica una Manitol-1 fosfato deshidrogenasa de <i>Escherichia coli</i>
MU	Producto de hidrólisis de MUG 4-metilumbeliferona
MUG	Ácido 4-metilumbeliferil β -D-glucurónico
NADP ⁺	Forma oxidada de la Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NADPH	Forma reducida de la Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NASC	Nottingham Arabidopsis Stock Center
NE	Norespermidina
nptII	Neomicina fosfotransferasa II
OMG	Organismos modificados genéticamente
ONU	Organización de las Naciones Unidas
P5C	Δ^1 -pirrolina-5-carboxilato de <i>Arabidopsis thaliana</i>
P5CDH	Δ^1 -pirrolina-5-carboxilato deshidrogenasa de <i>Arabidopsis thaliana</i>
P5CR	Δ^1 -pirrolina-5-carboxilato reductasa de <i>Arabidopsis thaliana</i>
P5CS	Δ^1 -pirrolina-5-carboxilato sintasa de <i>Arabidopsis thaliana</i>
par1-1D	Mutante dominante resistente a poliaminas 1-1
PCI	Fenol:cloroformo:alcohol isoamílico
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PDH	Prolina deshidrogenasa de <i>Arabidopsis thaliana</i>
PEG	Polietilenglicol
PP2A	Proteína fosfatasa de tipo 2A
PP2AA3	Subunidad 3 de la proteína fosfatasa 2A
PSE	Tampón de hibridación de ácidos nucleicos
pst1	Mutante fotoautotrófico de tolerancia a sales
PVP	Polivinil Pirrolidona
QB	Tampón de extracción de proteínas para cuantificación de actividad GUS
qRT-PCR	PCR cuantitativa en tiempo real
QSO2	Quiescina sulfidril oxidasa 2
RB	Borde derecho del T-DNA
ROS	Especies reactivas de oxígeno
rRNA	ARN ribosomal
SA	Ácido salicílico

SD	Medio mínimo de crecimiento de levaduras
SDS	Dodecil sulfato de sodio
SE	Error estándar
SEN1	Gen asociado a senescencia en <i>Arabidopsis thaliana</i>
sHSP	Pequeñas proteínas de choque térmico
SIGnAL	Instituto de análisis genómicos Salk
SKOR	Canal de K ⁺ rectificador de salida de la estela
SOB	Medio rico de crecimiento de bacterias
SOC	Medio rico de crecimiento de bacterias SOC suplementado con glucosa
ssDNA	ADN de esperma de salmón
sto1	Mutante de tolerancia a la sal de <i>Arabidopsis thaliana</i>
TAE	Tampón de electroforesis de ácidos nucleicos con base de ácido acético
TAIR	Base de datos de <i>Arabidopsis</i>
TBE	Tampón de electroforesis de ácidos nucleicos con base de ácido bórico
TBS	Tampón salino para incubaciones con anticuerpo
TCES	Tampón de extracción de ARN
T-DNA	Fragmento que se integra durante la transformación de plantas mediante <i>A. tumefaciens</i>
TE	Tampón-EDTA
TEMED	N,N,N,N'-tetrametilnediamina
T _m	Temperatura de anillamiento de híbridos de ácidos nucleicos
Tris	Hidroximetil amoniometano
UBQ10	Gen de síntesis de ubiquitina
WRKY	Familia de factores de transcripción de respuesta a estrés biótico y abiótico
WS	Wassilewskija
YNB	Sales nitrogenadas para el crecimiento de levadura
YPD	Medio rico de crecimiento de levaduras