

## RESUM

La família dels gens *NGATHA* (*NGA*) està formada per 4 gens molt relacionats (*NGA1*, *NGA2*, *NGA3* i *NGA4*) que codifiquen factors de transcripció amb un domini B3 d'unió a DNA. Els gens *NGA* pertanyen a la subfamília RAV dins dels gens B3, ja que, a diferència de la resta dels seus membres, formen un subgrup diferenciat que no té el domini AP2 que sí posseeixen altres gens RAV (Alvarez et al. 2006).

Els gens *NGA* són funcionalment redundants en el desenvolupament de l'estil i l'estigma d'una manera dosi-depenent. Mentre que els mutants individuals en els diferents loci *NGA* no presenten defectes en la morfologia del carpel, o els defectes són molt subtils, els mutants múltiples presenten defectes cada vegada majors en el desenvolupament de la part apical del gineceu que està completament alterada en el quàdruple mutant (Alvarez et al. 2009; Trigueros et al. 2009). Aquest fenotip mutant està relacionat amb la falta d'activació de dos enzims de la ruta de biosíntesi d'auxines, *YUCCA2* (*YUC2*) i *YUC4*, en el domini apical del gineceu. Els fenotips mutants de *NGA* són molt similars als causats per les mutacions en la família de factors de transcripció *SHORT INTERNODES / STYLISH* (*SHI / STY*) de tipus RING-like zinc-finger. S'ha observat que *NGA* i *STY* cooperen per promoure l'especificació de l'estil, dirigint la síntesi d'auxines mediada per *YUCCA*, en el domini apical del gineceu (Trigueros et al. 2009). D'altra banda, els fenotips dels mutants *nga* i de les línies de sobreexpressió de *NGA* recorden als fenotips observats en fons on l'expressió d'altres gens amb funcions rellevants en la morfogènesi del gineceu està alterada, com són: *FRUITFULL* (*FUL*), *HECATE* (*HEC*), *INDEHISCENT* (*IND*), *SPATULA* (*SPT*), etc. Així, és possible inferir que els gens *NGA* tenen un paper clau en aquest procés, encara que la seua relació genètica amb altres factors importants en el mateix no està clara, pel que en la present tesi hem volgut realitzar una anàlisi genètic profund per a determinar la seua posició i paper en aquestes rutes.

Per això, la primera aproximació que hem abordat ha sigut intentar determinar possibles reguladors d'aquests gens. Degut a que els gens *NGA* mostren patrons d'expressió quasi idèntics, semblava probable que tinguessin reguladors comuns, pel que es va realitzar una anàlisi informàtic dels promotors dels gens *NGA* per a buscar les regions més conservades. En aquest anàlisi identificarem una regió de 270 pb conservada en tots els promotors, en la que a més es pot distingir un subdomini de 50 pb molt similar entre tots ells. Esta regió presenta també similitud amb un fragment del promotor de *STYLISH1* (*STY1*), el patró d'expressió del qual és molt similar a la dels gens *NGA*, i que per tant també podria compartir reguladors.

Hem utilitzat aquests dominis conservats per dur a terme escrutinis de genoteques de simple híbrid en llevat, gràcies als quals hem identificat com a possibles reguladors dels

gens *NGA* un factor de transcripció de la família dels *SQUAMOSA PROMOTOR BINDING PROTEIN-LIKE (SPL)*, així com tres membres de la família de gens *TEOSINTE BRANCHED1, CYCLOIDEA, AND PROLIFERATING CELL FACTORS (TCP)*. Després de la identificació dels reguladors candidats, s'han dut a terme diferents anàlisis moleculars per confirmar la unió d'estos als promotors dels gens *NGA*. També hem caracteritzat mutants i les línies de sobreexpressió d'aquests possibles reguladors, així com les combinacions genètiques dels mutants corresponents amb les línies reportadores de *NGA* i amb mutants de pèrdua i ganància de funció de *NGA* per validar la seua relació genètica.

A més de la identificació de possibles reguladors, en aquesta tesi doctoral ens interessava aprofundir en l'anàlisi de les interaccions genètiques de *NGA* i altres factors clau en la morfogènesi dels teixits apicals del gineceu. Havíem observat que les línies de sobreexpressió de *HEC1, HEC3* i *NGA3* presentaven fenotips similars en el fruit: ovaris reduïts, regions apicals augmentades i ginófors llargs (Gremski et al. 2007), fenotips similars als de mutants afectats en la senyalització d'auxines. Per això, gran part d'aquest anàlisi s'ha centrat en determinar la relació funcional entre *NGA* i *HEC*. Per investigar la jerarquia regulatòria entre els dos factors hem dut a terme anàlisis genètics combinant les línies reportadores d'aquests gens amb els mutants *nga* o *hec*, o amb les línies de sobreexpressió. D'altra banda hem realitzat diferents assajos moleculars, mitjançant els quals hem comprovat que els dos factors actuen al mateix nivell formant part d'un complex transcripcional amb activitat cooperativa.

D'altra banda, es mostra també que, per mitjà d'anàlisis genètics i moleculars semblants en què hem inclòs altres gens de la família bHLH, hem deduït la necessària participació de *NGA* en un complex de major ordre format possiblement per *NGA, HEC* i també els factors *IND* i *SPT*, que seria necessari per a la correcta senyalització d'auxines durant la morfogènesi del gineceu i la formació de l'estigma en *Arabidopsis thaliana*.