



ROL DE *PAEA1* EN LA EVOLUCIÓN DE LA FLOR DE LAS GRAMÍNEAS

Gigena Virginia^{1,2}

¹Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (FBCB-CONICET)

²Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas UNL

Directora: Reinheimer Renata

Área: Ciencias Biológicas

Palabras claves: Palea, Flor, Gramíneas.

INTRODUCCIÓN

La formulación del modelo de desarrollo floral “ABCDE” representa uno de los avances más significativos en el estudio de la biología de las plantas (Bowman et al. 1989; Coen & Meyerowitz 1991; Weigel & Meyerowitz 1994). El modelo predice que, en *Arabidopsis* y *Antirrhinum* (ambas especies son eu-dicotiledóneas), la combinación de cinco clases de genes homeóticos determina la identidad de los órganos florales. Todos los genes que integran el modelo pertenecen a la familia de factores de transcripción MADS-box de tipo MIKC, excepto *AP2*. Las proteínas MADS-box se caracterizan por poseer un dominio MADS-box con función de unión al DNA, un dominio I que permite la formación selectiva de dímeros de unión al DNA, un dominio K con función de dimerización de proteínas debido a sus residuos hidrofóbicos y un C-terminal poco conservado entre las diferentes proteínas, que está involucrado en la activación transcripcional o formación de complejos de factores de transcripción (Becker, 2003).

Hasta qué punto se puede extender el modelo de desarrollo floral basado en flores de eu-dicotiledóneas a las gramíneas (monocotiledóneas) es una pregunta aún abierta. Las gramíneas son morfológicamente únicas entre las angiospermas (plantas con flores), dado que sus flores están altamente modificadas y agrupadas en estructuras evolutivamente novedosas conocidas con el nombre de espiguillas (Clifford 1987). El eje de cada espiguilla sostiene 2 brácteas externas y estériles (glumas) y contienen, dependiendo de la especie, desde 1 a 40 flores (Clifford 1987). Una flor típica lleva un gineceo central, 3 o 6 estambres, pero carece de tépalos convencionales. En su lugar, los órganos fértiles están rodeados por 2 o 3 órganos, por lo general, similares a glándulas denominados lodículas y 2 estructuras semejantes a brácteas estériles llamadas lemma y palea. La palea se localiza por fuera de las lodículas sobre el eje floral, mientras que la lemma parece nacer de la raquilla sosteniendo los órganos florales. La palea es morfológicamente diferente de la lemma, presentando en la mayoría de las gramíneas, dos nervaduras bien marcadas o a veces sólo una como la lemma.

Título del proyecto: Desarrollo y diversificación de inflorescencias de Gramíneas: rol de los genes de meristema APO1 y RFL/FLO/APO2

Instrumento: PICT

Año convocatoria: 2013

Organismo financiador: FONCyT

Director/a: Renata Reinheimer

Evidencia genética reciente indica que las lodículas son homólogas al verticilo de protección interno (pétalos) (Ambrose et al., 2000; Whipple et al., 2004; Whipple & Schmidt 2006); sin embargo, la homología de la lemma y palea aún es desconocida. Algunos autores suponen que la palea surge de la fusión de dos tépalos y existe cierta evidencia genética a favor de esta hipótesis (Stebbins, 1956; Ambrose et al., 2000; Luo et al., 2005; Jin et al., 2011). Sin embargo, la posición y morfología de la lemma y la palea es tan diferente con respecto a los tépalos convencionales, que muchos autores optaron por sugerir que dichos órganos no forman parte de los verticilos florales (Clifford, 1987).

En particular, dos preguntas centrales e interrelacionadas surgen de analizar los datos publicados hasta el momento: 1) ¿es la palea un verticilo de protección modificado? y 2) ¿la palea resultó de la fusión de dos o tres órganos diferentes? Es por ello que, para tratar de comenzar a responder a estas cuestiones, en este plan de trabajo proponemos caracterizar la evolución molecular y los patrones de expresión de proteínas MADS-box candidatas en gramíneas. Asimismo, proponemos estudiar el efecto que tiene sobreexpresar dichas proteínas en *Arabidopsis thaliana* como forma de aproximarnos a comprender la homología de la palea con los verticilos de protección de eu-dicotiledóneas.

OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es determinar el rol de las proteínas MADS-box en el origen y evolución de la flor de gramínea mediante el estudio de *PALEA1*, que codifica para un factor de transcripción de esta familia. Con este análisis se busca determinar el grado de conservación del modelo de desarrollo floral ABCDE entre eu-dicotiledóneas y monocotiledóneas-gramíneas.

METODOLOGÍA

Con el objetivo de reconstruir la evolución molecular de *PALEA1* y determinar las homólogas entre los genes, se buscaron secuencias de los genes que codifican para los homólogos en gramíneas. Las secuencias obtenidas de las búsquedas fueron alineadas y el alineamiento se usó para reconstruir la historia evolutiva de los genes que codifican para *PALEA1* en gramíneas. A partir de la topología obtenida se identificaron los homólogos directos de *PALEA1* en gramíneas.

Para determinar el grado de conservación funcional entre *PALEA1* y sus homólogos en gramíneas, se propuso, como punto de partida, investigar los patrones de expresión mediante RT-PCR, técnica que permite evaluar presencia/ausencia de expresión de los genes en estudio. Este relevamiento se llevó a cabo en dos especies de gramíneas: arroz y *Setaria viridis*.

Para evaluar la homología de la palea con los verticilos de protección de flores de eudicotiledóneas se planteó, como inicio, observar el efecto de sobreexpresar *PALEA1* a plantas de *Arabidopsis Col-0* transformadas con construcciones que contengan homólogos de *PALEA1* bajo el control del promotor constitutivo. Estas plantas, fueron utilizadas para evaluar posibles alteraciones fenotípicas en las estructuras reproductivas debidas a la expresión constitutiva de *PALEA1*. También se evaluó si otros aspectos del desarrollo de las plantas se ven afectados por la presencia del transgen.

CONCLUSIONES

La topología del árbol reconstruido indica que *PALEA1* se encontraba inicialmente en las angiospermas. Sin embargo, por cuestiones desconocidas, sólo se conservó en gramíneas perdiéndose en el resto de los genomas de angiospermas analizados, a excepción del genoma de *Amborella trichopoda* (especie hermana al resto de las especies con flores). Los estudios evolutivos muestran que *PALEA1* es un gen de copia única, exceptuando en maíz y *Panicum virgatum* que tuvieron o tienen genomas tetraploides.

Las plantas transgénicas de *Arabidopsis* que sobreexpresan *PALEA1* poseen flores anormales con fusión asimétrica de sépalos. Asimismo, y sorprendentemente, observamos que la inflorescencia de las plantas transgénicas es determinada en lugar de indeterminada como en las plantas salvajes. Estos resultados sugieren que *PALEA1* pudo haber sido seleccionado por las gramíneas para controlar diversos aspectos del desarrollo reproductivo.

Los resultados obtenidos hasta el momento nos aportaron datos valiosos que nos han permitido plantear nuevos experimentos para profundizar el conocimiento sobre la evolución de la flor de gramíneas.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Ambrose B. A., Lerner D. R., Ciceri P., Padilla C. M., Yanofsky M. F. and Schmidt R. J.** 2000. Molecular and genetic analyses of the Silky1 gene reveal conservation in floral organ specification between eudicots and monocots. *Molecular Cell*, 5, 569–579.
- Becker A. and Theiben G.** 2003. The major clades of MADS-box genes and their role in the development and evolution of flowering plants. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 29, 464–489.
- Bowman J. L., Smyth D. R. and Meyerowitz E. M.** 1989. Genes directing flower development in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 1, 37–52.
- Clifford H. T.** 1987. Spikelet and floral morphology. *In*: SODERSTROM T. R., HILU K. W., CAMPBELL C. S. & BARKWORTH M. E. *Grass Systematics & Evolution*. Washington, DC: Smithsonian Institute. 21–30.
- Coen E. S. and Meyerowitz E. M.** 1991. The war of the whorls: genetic interactions controlling flower development. *Nature*, 353, 31–37.
- Jin Y., Luo Q., Tong H., Wang A., Cheng Z., Tang J., Li D., Zhao X., Li X., Wan J., Jiao Y., Chu C. and Zhu L.** 2011. An AT-hook gene is required for palea formation and floral organ number control in rice. *Developmental Biology*, 359, 277–288.
- Luo Q., Zhou K., Zhao X., Zeng Q., Xia H., Zhai W., Xu J., Wu X., Yang H. and Zhu L.** 2005. Identification and fine mapping of a mutant gene for palealess spikelet in rice. *Planta*, 221, 222–230.
- Stebbins G.** 1956. Taxonomy and the evolution of genera, with special reference to the family *Gramineae*. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, 10, 235–245.
- Weigel D. and Meyerowitz E. M.** 1994. The ABCs of floral homeotic genes. *Cell*, 78, 203–209.
- Whipple C. J., Ciceri P., Padilla C. M., Ambrose B. A., Bandong S. L. and Schmidt R. J.** 2004. Conservation of B-class floral homeotic gene function between maize and *Arabidopsis*. *Development*, 131, 6083–6091.
- Whipple C. J. and Schmidt R. J.** 2006. Genetics of grass flower development. *Advances in Botanical Research*, 44, 385–424.
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=22708584>