
**EVALUACIÓN DEL ROL FUNCIONAL DEL GEN VviPSZ3 EN EL
DESARROLLO REPRODUCTIVO DE *Vitis vinifera* L. cv. Carménère. ANÁLISIS
MEDIANTE COMPLEMENTACIÓN DEL MUTANTE *zat4* DE *Arabidopsis*
*thaliana***

**ANA CAROLINA PUENTES ROMERO
DOCTOR EN CIENCIAS
(MENCIÓN EN INGENIERÍA GENÉTICA VEGETAL)**

RESUMEN

Vitis vinifera L. es un importante cultivo frutal a nivel mundial. Por esta razón, es esencial comprender el desarrollo reproductivo de esta especie. Sin embargo, en la actualidad se tiene escaso conocimiento sobre su control genético. Algunos cultivares de vides, como Carménère, presentan alta incidencia en el desarrollo de frutos partenocárpicos, los cuales se forman sin el proceso de doble fecundación, por consiguiente, no presentan semillas, permaneciendo pequeños y verdes hasta la maduración. El polen desempeña un papel fundamental en la fertilidad de la planta, a través de la entrega de los gametos masculinos al saco embrionario, para que ocurra la doble fecundación. En especies modelos, se han descrito factores de transcripción del tipo C2H2 zinc-finger (C2H2-ZF) involucrados en diferentes estadios del desarrollo y maduración del polen. En la vid, VviPSZ3 es un C2H2-ZF que estaría involucrado en el desarrollo del polen y semillas. En este trabajo, se posicionó a VviPSZ3 en la red regulatoria del desarrollo de polen y semillas. Primero, se determinó el patrón temporal del desarrollo floral y del polen en la vid, posicionando el desarrollo del polen entre los estadios 13 y 15 del sistema E-L. Con estos antecedentes, se determinó que VviPSZ3 se expresa tardíamente en el desarrollo de anteras y polen. Luego, se expresó VviPSZ3 en el genotipo mutante de *Atzat4*, un putativo ortólogo en *Arabidopsis thaliana*. Se caracterizó fenotípicamente el mutante *Atzat4* (+/-), como putativo ortólogo de VviPSZ3, observándose defectos en la línea germinal masculina, mostrando defectos en la germinación y elongación del tubo polínico. Además, *Atzat4* (+/-) presentó una reducida fertilidad, con un menor número de semillas por silicua, las cuales, además, mostraron una reducida viabilidad y germinación; de igual manera mostró un tamaño de silicua menor al compararse con el WT. La expresión de

VviPSZ3 en Atzat4 restableció el fenotipo silvestre, mostrando corrección de los defectos en el desarrollo del polen y semillas, previamente caracterizados en el mutante, sugiriendo que ambos factores de transcripción son ortólogos. Finalmente, se identificaron putativos genes blanco de VviPSZ3, en plantas transgénicas de *A. thaliana*, los cuales estarían involucrados en procesos del desarrollo y maduración del grano de polen, fundamentalmente, durante la formación de la pared y la cubierta del polen; además, durante el proceso de polinización y doble fecundación. Asimismo, se identificaron genes blancos de VviPSZ3, que participan en el desarrollo del embrión y las semillas. Con estos resultados, se puede concluir que VviPSZ3 estaría involucrado en procesos reproductivos de *V. vinifera* cv. Carménère, asociado al desarrollo del polen y semillas.

ABSTRACT

Vitis vinifera L. is an important fruit crop worldwide. For this reason, it is essential to understand its reproductive development. However, currently there is little knowledge about its genetic control. Some grapevine cultivars, such as cv. Carménère, have a high incidence in the development of parthenocarpic fruits, which forms without the double fertilization process, and consequently, do not present seeds, remaining small and green until maturation. Pollen plays a fundamental role in plant fertility, through the delivery of male gametes to the embryo sac, to double fertilization occurs. In model species, C2H2-type zinc-finger transcription factors (C2H2-ZF) have been involved in different pollen development and maturation stages. In grapevine, VviPSZ3 is a C2H2-ZF that would be involved in pollen and seeds development. In this work, VviPSZ3 was positioned in the pollen and seed development regulatory network. First, the flower and pollen development timing on the grapevine, was determined, positioning pollen development between stages 13 and 15, in the E-L system. With this background, it was determined that VviPSZ3 was expressed late in the anther and pollen development. Then, VviPSZ3 was introduced in the mutant genotype of Atzat4, a putative ortholog in *Arabidopsis thaliana*. The mutant Atzat4 (+/-) was characterized phenotypically, as a putative orthologue of VviPSZ3, observing defects in the male germline, and showing defects in the pollen tube germination and elongation. Furthermore, Atzat4 (+/-) presented reduced fertility, with a lower number of seeds per silique, which also, showed reduced viability and germination. It also exhibited a smaller silique size than the WT. The expression of VviPSZ3 in Atzat4 restored the wild phenotype corrected the defects in pollen and seeds development, previously characterized in the mutant, suggesting that both transcription factors are orthologous. Finally, VviPSZ3 target genes were identified in *A. thaliana* transgenic plants, which would be involved in processes of pollen grain development and maturation, fundamentally, during the pollen wall and coat formation; moreover, during pollination and double fertilization process. Besides VviPSZ3 target genes were identified, involved in the embryo and seeds

development. With these results, it is concluded that VviPSZ3 would be involved in *V. vinifera* cv. Carménère reproductive processes, related to pollen and seed development.