



Miguel Hernández
Universidad Miguel Hernández de Elche

**Caracterización genética y molecular
de los mutantes *venosa* y *denticulata*
de *Arabidopsis thaliana***

Almudena Mollá Morales
Elche, 2010

JOSÉ LUIS MICOL MOLINA, Catedrático de Genética de la Universidad Miguel Hernández de Elche,

JOSÉ MANUEL PÉREZ PÉREZ, Profesor Titular de Genética de la Universidad Miguel Hernández de Elche, y

PEDRO ROBLES RAMOS, Profesor Titular de Genética de la Universidad Miguel Hernández de Elche,

HACEMOS CONSTAR

que el presente trabajo ha sido realizado bajo nuestra dirección y recoge fielmente la labor desarrollada por la Licenciada Almudena Mollá Morales para optar al grado de Doctor. Las investigaciones reflejadas en esta Tesis se han desarrollado íntegramente en la Unidad de Genética del Instituto de Bioingeniería de la Universidad Miguel Hernández de Elche.

José Luis Micol Molina

José Manuel Pérez Pérez

Pedro Robles Ramos

Elche, 22 de noviembre de 2010.

II.- RESUMEN Y CONCLUSIONES

Con el fin de contribuir a la disección genética del desarrollo foliar en las plantas, hemos estudiado en esta Tesis varias mutaciones que perturban propiedades locales de la morfología de las hojas de *Arabidopsis thaliana*.

En las hojas de los mutantes reticulados la venación se distingue claramente por su coloración verde, que destaca sobre un limbo pálido. Este rasgo fenotípico ha sido utilizado anteriormente en el laboratorio de J.L. Micol como indicador externo de la existencia de alteraciones en la proliferación de los tejidos intervenales internos. Estos mutantes reticulados fueron agrupados inicialmente en la clase Venosa (Ven), que incluye 6 grupos de complementación, dos de los cuales han sido estudiados en esta Tesis: *VEN1* y *VEN3*.

El grupo de complementación *VEN3* incluye 4 alelos semidominantes que reducen el tamaño de las células e incrementan los espacios intercelulares del mesófilo. Hemos realizado un análisis metabolómico de las hojas de los mutantes *ven3*, que ha evidenciado la acumulación de ornitina y un déficit de arginina. Hemos clonado posicionalmente el gen *VEN3*, concluyendo que codifica la subunidad grande de la carbamoil fosfato sintetasa (CPS), que cataliza en otras especies la conversión de glutamina en glutamato y carbamoil fosfato (CP). El CP se condensa con la ornitina para dar lugar a citrulina en la ruta de biosíntesis de la arginina. La suplementación del medio de cultivo con estos metabolitos evidenció que los mutantes *ven3* son más sensibles que el tipo silvestre a la inhibición del crecimiento causada por la ornitina y que la citrulina suprime su fenotipo morfológico.

Nuestros resultados indican que la actividad CPS y la arginina son particularmente necesarias para el desarrollo del mesófilo intervenal —pero no para las venas y las células perivasculares— en las hojas de *Arabidopsis thaliana*. La expresión heteróloga del gen *VEN3* en mutantes de *Escherichia coli* deficientes en la actividad CPS nos ha permitido demostrar su actividad enzimática, así como que su función está conservada entre estas dos especies tan distantes.

También hemos clonado posicionalmente el gen *VEN1*, concluyendo que codifica la subunidad alfa de la antranilato sintasa, que cataliza la primera etapa de la ruta de biosíntesis del triptófano. El mesófilo de los mutantes *ven1* contiene células más grandes y más espacios aéreos que el tipo silvestre. Serán necesarios más estudios del gen *VEN1* para desentrañar su papel en el desarrollo foliar.