



Miguel Hernández

Universidad Miguel Hernández de Elche

**Caracterización genética y molecular
de los mutantes *hemivenata*
de *Arabidopsis thaliana***

María Magdalena Alonso Peral

Elche, 2006

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

MARÍA ROSA PONCE MOLET, Profesora 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 realizada por la Licenciada María Magdalena Alonso Peral para optar al grado de Doctor. Las investigaciones reflejadas en esta Tesis se han desarrollado íntegramente en la División de Genética del Departamento de Biología Aplicada y el Instituto de Bioingeniería de la Universidad Miguel Hernández de Elche.

José Luis Micol Molina

María Rosa Ponce Molet

Elche, 30 de octubre de 2006

I.- RESUMEN Y CONCLUSIONES

El sistema vascular de los organismos pluricelulares forma parte de una familia de estructuras biológicas ramificadas arborescentemente, jerarquizadas y tridimensionales, que también incluye a los sistemas respiratorios y nerviosos de muchas especies animales. Para diseccionar las reglas generativas de estas topologías pueden utilizarse como modelo los patrones de venación de las hojas de las plantas y las alas de los insectos, que son bidimensionales y muy sencillos.

En esta Tesis doctoral hemos estudiado los mutantes *hemivenata* (*hve*), que presentan alteraciones en su patrón de venación foliar. Hemos clonado posicionalmente el gen *HVE* y caracterizado tres de sus alelos mutantes, *hve-1*, *hve-2* y *hve-3*, a nivel molecular y fenotípico. Estos mutantes presentan un patrón de venación foliar muy simple, con un número de venas secundarias y terciarias muy inferior al silvestre, y ausencia o acortamiento de las de orden superior. Los mutantes *hve* también manifiestan una floración y senescencia retrasadas, disminución de la fertilidad, porte arbustivo y ausencia de ondulaciones en la raíz. Algunos de estos rasgos recuerdan a los mutantes alterados en la percepción de la auxina. Hemos establecido que los mutantes *hve* son ligeramente insensibles a auxina, aunque responden como el tipo silvestre a los inhibidores del transporte de esta hormona.

El producto del gen *HVE* es una proteína CAND1 (CULLIN-ASSOCIATED AND NEDDYLATION-DISSOCIATED1) cuya participación en la ubiquitinación ha sido demostrada en células de mamífero. El alelo espontáneo *hve-1* altera el procesamiento de los transcritos del gen *HVE*, y *hve-2* y *hve-3* son portadores de inserciones de ADN-T. El tamaño de la inflorescencia y la fertilidad son reducidos más severamente por *hve-2* y *hve-3* que por *hve-1*, lo que sugiere que este último alelo es hipomorfo. El patrón de venación sencillo de las plantas *hve* parece deberse a un defecto temprano en el desarrollo del patrón de venación. Hemos determinado *in vitro* que la proteína HVE se une a la CULINA1 y que los patrones de venación de los mutantes *axr1* y *hve* son similares. Estos resultados y nuestro análisis del fenotipo vascular de los mutantes *hve* indican que la señalización de la auxina mediada por la ubiquitina participa en el establecimiento del patrón de venación de los cotiledones, las hojas vegetativas, los pétalos y los sépalos. Nuestros análisis de dobles mutantes y plantas transgénicas indican que el transporte y la percepción de la auxina intervienen independientemente en la formación del patrón de venación, y que *HVE* actúa antes que *ATHB8* en una ruta de desarrollo en la que participa *AXR1*, pero no lo hacen *LOP1*, *PIN1*, *CVP1* ni *CVP2*.