

**Análisis genético y molecular
de los genes *ICU11*, *ICU13* e *ICU14*
de *Arabidopsis thaliana***

Trabajo realizado por la Licenciada Francisca María Lozano García, en la División de Genética del Departamento de Biología Aplicada y el Instituto de Bioingeniería de la Universidad Miguel Hernández de Elche, para optar a la Suficiencia investigadora.

Elche, 24 de septiembre de 2004.

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 Francisca María Lozano García para optar a la Suficiencia investigadora. Las investigaciones reflejadas en esta memoria 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, 24 de septiembre de 2004.

V.- RESUMEN Y CONCLUSIONES

En este trabajo se ha intentado contribuir al estudio del desarrollo vegetal y la organogénesis de la hoja, tomando como material de partida alelos mutantes de tres genes a los que hemos denominado *INCURVATA11 (ICU11)*, *ICU13* e *ICU14*. Hemos considerado a los genes *ICU* candidatos a estar implicados en la especificación y/o el mantenimiento de la dorsoventralidad foliar, dado que sus alelos mutantes *icu* deforman las hojas vegetativas por presentar el limbo recurvado hacia el haz, a diferencia de las silvestres, que son aplanadas. Hemos caracterizado la morfología de los mutantes *icu*, establecido sus interacciones genéticas entre sí y con mutaciones en otros genes implicados en el desarrollo foliar, y estamos determinando la naturaleza molecular de los genes *ICU*.

La cartografía de baja resolución de estos mutantes se llevó a cabo mediante análisis de ligamiento a microsatélites polimórficos, y la de alta resolución buscando y ensayando nuevos marcadores moleculares con la finalidad de estrechar al máximo las regiones candidatas. Se concluyó que el gen *ICU11* se encuentra entre los marcadores At1g22640 y F19G10 del cromosoma 1, en una región candidata de menos de 0,12 cM, aproximadamente 140 kb, e incluye unos 40 genes. Por su parte, el gen *ICU13* radica entre los marcadores T10M13 y T5J8 del cromosoma 4, en un intervalo de unos 1,19 cM, aproximadamente 350 kb, que incluye unos 80 genes. Por último, *ICU14* se encuentra entre los marcadores MCB22 y MPN9, en un intervalo de unos 0,25 cM del cromosoma 3, aproximadamente 400 kb, e incluye unos 107 genes.

Con la intención de clonar posicional los genes *ICU11*, *ICU13* e *ICU14*, estamos desarrollando nuevos marcadores moleculares para estrechar las regiones candidatas. Una vez identificado el gen portador de la mutación, procederemos a la confirmación de la identidad de estos genes mediante rescate fenotípico, obteniendo construcciones que contengan el ADNc silvestre de cada uno de ellos, bajo el control de un promotor constitutivo, para transferirlas a las estirpes mutantes y estudiar la eventual restauración del fenotipo silvestre. Caracterizaremos los mutantes *icu* a nivel de la morfología general de la planta mediante observación y microfotografía de las hojas vegetativas y caulinares, los órganos florales y la raíz, de la morfología externa de la hoja mediante microscopía electrónica de barrido, y de la ultraestructura foliar mediante la realización de cortes histológicos. Además, intentaremos definir los patrones de expresión espacial y temporal de los genes a estudio, mediante hibridación *in situ* y RT-PCR (Ponce *et al.*, 2000).

Finalmente, se propondrá un modelo acerca del papel de los genes *ICU11*, *ICU13* e *ICU14* en el desarrollo de la hoja.

Hemos estudiado la expresión de los genes de identidad de órgano floral *APETALA1* (*AP1*), *AP2*, *AP3* y *AGAMOUS* (*AG*) en las hojas vegetativas de los mutantes *icu11* e *icu13*, encontrando diferencias en sus niveles de expresión con respecto a los de la estirpe silvestre En-2. La mutación *icu11* causa la expresión ectópica en la hoja de los genes de identidad de órgano floral *AP1*, *AP3* y *AG*, mientras que la mutación *icu13* manifiesta desrepresión ectópica de *AG* y *AP3*. El estudio de las interacciones entre *icu11* y otras mutaciones ha revelado la existencia de interacciones genéticas que indica que sus funciones están relacionadas. El fenotipo del doble mutante *icu11 icu2* es sinérgico, a diferencia de los de otros dobles mutantes que hemos obtenido y estudiado en este trabajo. Considerados en conjunto, estos resultados sugieren que el gen *ICU11* participa en la memoria celular mediada por la cromatina, proceso en el está implicado *ICU2*.