



Universidad Miguel Hernández de Elche

**Análisis genético y molecular
del mutante *extrahydathodes*
de *Arabidopsis thaliana***

Aránzazu Martínez Asperilla
Trabajo de fin de Máster
Elche, 2010

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

HÉCTOR CANDELA ANTÓN, Investigador postdoctoral 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 Aránzazu Martínez Asperilla como trabajo final del Máster en Bioingeniería. Las investigaciones reflejadas en esta memoria se han desarrollado íntegramente en la Unidad de Genética del Instituto de Bioingeniería de la Universidad Miguel Hernández de Elche.

José Luis Micol Molina

Héctor Candela Antón

Elche, 13 de septiembre de 2010.

I.- RESUMEN Y CONCLUSIONES

Como parte de la disección genética del desarrollo de las hojas de las plantas que se está llevando a cabo en el laboratorio de J.L. Micol, hemos iniciado en este trabajo la caracterización genética y molecular del gen *EXTRAHYDATHODES* (*EHY*) de *Arabidopsis thaliana*, cuyas mutaciones incrementan el número de hidatodos de las hojas vegetativas del primer nudo de la roseta basal. Los hidatodos son glándulas conectadas con el sistema vascular, ubicadas en las indentaciones del margen foliar. Consideramos que la clonación y caracterización del gen *EHY* podría contribuir a la comprensión de los mecanismos de control de la formación del patrón de venación foliar.

El mutante *ehy* fue aislado a partir de una población de plantas del ecotipo Wassilevskija-2 (*Ws-2*) (Candela *et al.*, 1999). Esto nos ha obligado a identificar nuevos polimorfismos entre *Ws-2* y las estirpes de uso más frecuente para cartografía génica, *Col-0* y *Ler*. Mediante análisis del ligamiento a marcadores moleculares, hemos determinado que el gen *EHY* radica en el cromosoma 1, en un intervalo de 1,03 Mb que contiene 263 genes.

El margen de las hojas de los mutantes *ehy* presenta indentaciones prominentes, un rasgo que comparte con algunos mutantes portadores de alelos de genes que codifican proteínas ribosómicas, pertenecientes a las clases fenotípicas *Apiculata* y *Angusta*. Es por eso que decidimos estudiar los tres únicos genes del intervalo candidato a contener *EHY* que codifican proteínas de este tipo. Hemos secuenciado la unidad de transcripción de uno de ellos, *PIGGYBACK2* (*PGY2*), sin encontrar mutación alguna. Este resultado, sin embargo, no nos permite descartar por completo la existencia de mutaciones en las regiones reguladoras del gen. Pretendemos utilizar la estirpe N358173, portadora de una inserción de ADN-T en el gen *PGY2*, que manifiesta un fenotipo morfológico parecido al del mutante *ehy*, para realizar una prueba de complementación que nos permitirá determinar si *PGY2* y *EHY* son el mismo gen.

Con el fin de estudiar en detalle el fenotipo de la mutación *ehy*, la hemos combinado con los transgenes *DR5::GUS* y *ATHB-8::GUS*, que se expresan en los hidatodos y los conductos vasculares, respectivamente. Hemos visualizado los patrones de expresión de estos transgenes en fondos mutantes y silvestres entre los días 6 y 9 tras la estratificación en hojas del primer nudo de la roseta basal. Las plantas *ehy* manifestaron un crecimiento más lento que las silvestres. Las plantas *ATHB-8::GUS ehy* mostraron un patrón de venación continuo, de complejidad aparentemente similar al de las plantas *ATHB8::GUS EHY*, en el que son patentes los hidatodos supernumerarios.