



**UNIVERSITAS**  
*Miguel Hernández*

**Universidad Miguel Hernández de Elche**

# **Obtención y caracterización preliminar de plantas transgénicas *CUC2<sub>pro</sub>:CKX1* de *Arabidopsis***

**Iván Barberá Aura**

Tutores:

José Luis Micol Molina

Sergio Navarro Cartagena

Área de Genética

Departamento de Biología Aplicada

Grado en Biotecnología

Facultad de Ciencias Experimentales

Curso académico 2021-2022

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

SERGIO NAVARRO CARTAGENA, contratado predoctoral 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 Iván Barberá Aura como Trabajo de Fin del Grado en Biotecnología. 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.

**JOSE LUIS  
MICOL  
MOLINA** Firmado digitalmente por JOSE LUIS|MICOL|MOLINA  
Fecha: 2022.06.27 12:44:21 +02'00'

José Luis Micol Molina

**SERGIO  
NAVARRO  
CARTAGENA** Firmado digitalmente por SERGIO|NAVARRO|CARTAGENA  
Fecha: 2022.06.27 13:00:35 +02'00'

Sergio Navarro Cartagena

Elche, 27 de junio de 2022

## I.- RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

La morfogénesis del margen de las hojas simples de la brasicácea *Arabidopsis thaliana* se ha explicado en base a la localización de la auxina, que depende de un bucle de retroalimentación al que contribuyen el transportador del eflujo de la auxina PIN-FORMED1 (PIN1), el factor de transcripción CUP-SHAPED COTYLEDON2 (CUC2) y la propia hormona. CUC2 y la auxina se acumulan en los senos y las protrusiones, respectivamente, del margen del primordio foliar. Además de la auxina, las citoquininas regulan la formación de las hojas compuestas de la solanácea *Solanum lycopersicum* y la brasicácea *Cardamine hirsuta*. Se ha demostrado que las proteínas CUC contribuyen al desarrollo de los óvulos de *Arabidopsis*, reprimiendo la inactivación de las citoquininas.

En este Trabajo de Fin de Grado se ha construido el transgén *CUC2<sub>pro</sub>:CKX1*, para expresar la enzima CYTOKININ OXIDASE1, que degrada las citoquininas, en el dominio de expresión de *CUC2* del primordio foliar de *Arabidopsis*. Hemos obtenido plantas transgénicas *CUC2<sub>pro</sub>:CKX1*, cuyos márgenes foliares son más simples que los del tipo silvestre Col-0 y similares a los del mutante hipomorfo *cuc2-3*. Estos resultados refuerzan la hipótesis de que las citoquininas participan en la morfogénesis del margen de las hojas simples, de modo análogo a su contribución al desarrollo de las hojas compuestas de *Solanum lycopersicum* y *Cardamine hirsuta* y a la formación de los óvulos de *Arabidopsis*.

**Palabras clave:** *Arabidopsis thaliana*, margen foliar, CUC2, citoquininas, CKX1.

In the simple leaves of *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae), margin morphogenesis has been explained based on auxin localization, which depends upon a feedback loop involving the PIN-FORMED1 (PIN1) auxin efflux carrier, the CUP-SHAPED COTYLEDON2 (CUC2) transcription factor, and auxin itself. In simple leaf primordia margins, CUC2 accumulates at the sinuses, and auxin at the protrusions. Together with auxin, cytokinins regulate compound leaf formation in *Solanum lycopersicum* (Solanaceae) and *Cardamine hirsuta* (Brassicaceae). CUC proteins also contribute to ovule development in *Arabidopsis* by repressing cytokinin inactivation.

In this End of Degree Assignment, a *CUC2<sub>pro</sub>:CKX1* transgene was constructed to express at the *CUC2* leaf primordium domain the CYTOKININ OXIDASE1 enzyme, which degrades cytokinins. We obtained *CUC2<sub>pro</sub>:CKX1* transgenic plants, whose leaf margins were simpler than in the wild type, and reminiscent of those of the *cuc2-3* hypomorphic mutant. Our results reinforce the hypothesis of a role for cytokinins in simple leaf margin morphogenesis, in an analogous manner to their contribution to *Solanum lycopersicum* and *Cardamine hirsuta* compound leaf development and *Arabidopsis* ovule formation.

**Keywords:** *Arabidopsis thaliana*, leaf margin, CUC2, cytokinins, CKX1.