



*Miguel Hernández*  
Universidad Miguel Hernández de Elche

**Caracterización genética y molecular  
de los genes *INCURVATA11*,  
*INCURVATA13* e *INCURVATA14*  
de *Arabidopsis thaliana***

David Esteve Bruna  
Trabajo de fin de Máster  
Elche, 2009

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

JOSÉ MANUEL PÉREZ PÉREZ, Profesor Contratado Doctor 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 el Licenciado David Esteve Bruna 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

José Manuel Pérez Pérez

Elche, 22 de junio de 2009.

## I.- RESUMEN Y CONCLUSIONES

Como parte del proceso de disección genética del desarrollo de la hoja de *Arabidopsis thaliana* que se está llevando a cabo en el laboratorio de J.L. Micol, el objetivo principal de mi Tesis es el análisis genético y molecular de los genes *INCURVATA11 (ICU11)*, *ICU13* e *ICU14*. Consideramos que los genes *ICU* son 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, recurvando el limbo hacia el haz, a diferencia de las silvestres, que son aplanadas.

En esta memoria se presenta la fase inicial de la caracterización de los mutantes *icu11*, *icu13* e *icu14*, que habían sido estudiados a nivel preliminar en el laboratorio de J.L. Micol (Serrano-Cartagena *et al.*, 1999; Lozano, Ponce y Micol, sin publicar). El mutante *icu11* presenta floración temprana y sus hojas son ligeramente asimétricas y se recurvan hacia el haz, aunque alguna de ellas también lo hace transversalmente hacia el envés. Hemos confirmado que *icu11* interacciona sinérgicamente con *icu2* y *clf-2*, lo que sugiere una relación funcional entre *ICU11* y los genes *CLF (CURLY LEAF)* e *ICU2*, que participan en el marcaje epigenético asociado a la memoria celular mediada por la cromatina (Goodrich *et al.*, 1997; Vermaak *et al.*, 2003; Barrero *et al.*, 2007).

El mutante *icu13* es enano y presenta una dominancia apical reducida y más hojas vegetativas que su ancestro silvestre. Hemos clonado posicionalmente *ICU13* y establecido que es At4g02570, también llamado *AUXIN RESISTANT6 (AXR6)* (Hobbie *et al.*, 2000) o *CUL1*. Su producto es la CULINA1 (*CUL1*), que forma parte del complejo ligasa de ubiquitina de tipo SCF (Hellmann *et al.*, 2003), cuya función es unir monómeros de ubiquitina a las proteínas que van a ser posteriormente degradadas por el proteasoma 26S. El mutante *icu13* presenta una transición C→T que altera el *splicing*, de modo que parte de sus transcritos se procesan de una manera aberrante y se traducen a una proteína truncada. Hemos confirmado que *icu13* es alélico de *AXR6* cruzándolo por *axr6-3 (eta1)* (Quint *et al.*, 2005). El fenotipo pleiotrópico de *icu13* incluye rasgos comunes a otros mutantes afectados en la transducción de la señal de la auxina, como su insensibilidad parcial al ácido indol-3-acético y su patrón de venación incompleto. Estamos obteniendo dobles mutantes para definir las eventuales interacciones genéticas de *ICU13* con otros genes. Para ello, hemos cruzado *icu13* por otros mutantes afectados en la señalización de la auxina y/o que muestran un desarrollo vascular alterado.

Disponemos de dos alelos mutantes, *icu14-1* e *icu14-2*, del gen *ICU14*. Algunos rasgos fenotípicos de los mutantes *icu14* no son compartidos por otros mutantes *icu*

estudiados. Presentan una menor densidad celular en las regiones intervenales del mesófilo en empalizada, como los mutantes *reticulata* (re; González-Bayón *et al.*, 2006). Hemos demostrado que su fenotipo foliar depende de la luz, restaurándose el fenotipo silvestre cuando es intensa. Estos rasgos sugieren que el producto de *ICU14* actúa en los cloroplastos.