



Universidad Miguel Hernández de Elche

**Análisis de las funciones
postembrionarias de genes letales
embrionarios en *Arabidopsis thaliana***

Tamara Muñoz Nortes
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 Tamara Muñoz Nortes 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

El genoma de *Arabidopsis thaliana* contiene centenares de genes que son necesarios para el desarrollo embrionario y/o gametofítico, cuyas mutaciones de pérdida de función causan letalidad. Aunque muchos de los genes letales embrionarios se expresan también en otras etapas del desarrollo de la planta, sus funciones postembrionarias no pueden estudiarse mediante métodos convencionales, dado que los mutantes mueren en estadios tempranos. Las técnicas del análisis clonal proporcionan una solución a este problema, al posibilitar el estudio del fenotipo de las mutaciones letales embrionarias en grupos de células de plantas adultas.

Hemos elegido 35 genes letales embrionarios para su análisis clonal en hojas de *Arabidopsis thaliana*, empleando para ello las denominadas líneas CAUT (de “cell autonomy”; Furner *et al.*, 2008). La elección de los genes a estudio se basó en tres criterios: (1) la disponibilidad de alelos recesivos y letales embrionarios, (2) su expresión durante el desarrollo de las hojas vegetativas de estirpes silvestres de *Arabidopsis thaliana*, y (3) que codificasen proteínas con dominios conservados y que pudieran tener algún grado de implicación en el desarrollo foliar.

Hemos generado dobles mutantes para una mutación *chlorata-42* (*ch-42*), que causa una pigmentación amarillenta, y un alelo mutante de uno de los 27 genes a estudio. Cada una de esas líneas ha sido cruzada por una línea CAUT portadora de una inserción del transgén *CH-42*, ubicada entre el centrómero y el gen a estudio. Hemos seleccionado hasta ahora familias F₂ portadoras de mutaciones letales, derivadas de 13 de estos cruzamientos. Hemos seleccionado a continuación al menos 2 familias procedentes de plantas portadoras de una mutación letal embrionaria, y otras tantas procedentes de familias no portadoras. Hemos irradiado con rayos X (1.000 y 16.000 rad) 66 familias de semillas, a fin de inducir sectores hemicigóticos para una mutación *emb*.

Hemos sembrado las semillas irradiadas, examinando periódicamente las plantas a las que dieron lugar, en busca de sectores amarillentos y otras desviaciones del fenotipo silvestre. Hemos cultivado unas 500 plantas de cada familia irradiada, fotografiando los sectores que hemos encontrado. Hemos recolectado hojas con sectores para su conservación en etanol y su ulterior estudio. Hemos encontrado y estamos estudiando algunos “escapers”, mutantes infrecuentes con un genotipo letal embrionario, que sobreviven como consecuencia de la penetrancia incompleta de la letalidad y manifiestan un fenotipo postembrionario presuntamente asociado a la mutación a estudio.